

ДИНАМІКА ФОРМУВАННЯ ПІГМЕНТІВ У ЛИСТКАХ РОСЛИН *CANNABIS SATIVA* L. ЗА ФАЗАМИ РОЗВИТКУ

В.М. Кабанець

Інститут сільського господарства Північного Сходу НААН

*Висвітлено актуальність досліджень оцінки впливу індукції хлорофілу на функціональний стан сортів конопель посівних у різних фазах розвитку. Визначено функціональний стан фотосинтетичного апарату рослин восьми сортів культури за змінами вмісту хлорофілу *a* і *b* у листових пластинках. Проаналізовано зміни фотосинтетичних процесів у листках, що засвідчили, що всі рослини конопель посівних у фазу біологічної стиглості мають найнижчий показник хлорофілу у листках рослин, за винятком індексу накопичення хлорофілу *b*, значення якого є значно вищим порівняно із ранніми фазами розвитку *Cannabis sativa* L. Встановлено, що найбільша сумарна кількість хлорофілу *a* і *b* формується у листках конопель сорту Гляна — 4,86 мг/г, найменша — у сорту Глухівські 85 — 2,62 мг/г у фазу цвітіння.*

Ключові слова: коноплі посівні, хлорофіл, сорти, органогенез, листові пластинки.

Як відомо, продуктивність фотосинтезу обумовлено рівнем вмісту хлорофілу у листках рослин. Він виконує роль сенсоризатора, тобто є речовиною, що поглинає світло, і за допомогою отриманої енергії активує хімічні реакції з утворенням органічних речовин. Професор Т.Н. Годнєв відзначає, що лише гемоглобін крові може зрівнятись за значенням з хлорофілом і його роллю в життєвих процесах зеленої рослини [1].

Нормальне протікання процесу фотосинтезу в рослинах забезпечують зелені пігменти, що містяться в їх листках. Головним компонентом пігментів конопель посівних (*Cannabis sativa* L.), як і інших рослин, є хлорофіл, що накопичується у найважливіших структурах клітини зеленого листка — хлоропластах. До груп хлорофілу належать органічні сполуки, які містять чотири пірольних кільця, зв'язаних атомами магнію:

– хлорофіл *a* — $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ (молекулярна маса — 893) має синьо-зелений відтінок,

– хлорофіл *b* — $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ (молекулярна маса — 907) з жовто-зеленим відтінком [2, 3].

Уміст хлорофілу *a* в листку майже втричі перевищує вміст хлорофілу *b*.

Коноплі посівні є типовими автотрофними рослинами, яким для росту та розвитку є необхідною енергія сонячних променів у процесі фотосинтезу. До того ж рослини конопель є геліофітами, для успішного органогенезу яких необхідно освітлення прямими сонячними променями — рослини поглинають його за допомогою зелених надземних частин, насамперед листовими пластинками. Листкові пластинки цієї культури є унікальними оптичними системами, які залежно від кута освітлення можуть змінювати своє просторове розміщення і забезпечувати оптимальний рівень процесів фотосинтезу [4, 5].

Уміст і роль обох форм хлорофілу у листках конопель посівних досліджували у різні фази розвитку рослин: цвітіння, технічної стиглості, біологічної стиглості.

Для досліджень відбирали повністю розвинені одноярусні листки.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Оцінювання функціонального стану пігментної системи — кількості хлорофілу *a* і *b* у листових пластинках конопель посівних — здійснювали в основні фази розвитку рослин (цвітіння — біологічна стиглість).

У процесі дослідження проаналізовано вплив на вміст хлорофілу восьми сортів конопель посівних у міжфазні періоди росту

й розвитку рослин — від початку повного формування листкової пластинки.

Польові дослідження проводили в умовах експериментальної бази Дослідної станції луб'яних культур Інституту сільськогосподарства Північного Сходу НААН. Для лабораторних дослідів були використані повністю сформовані листки (7–10 од.). Їх відбирали зранку у день проведення вимірювань та, за необхідності, перед аналізом витримували в темряві не менше 30 хв. Усього для кожного варіанта досліді було визначено зміни індукції хлорофілу листків у 4–5 зразках.

Уміст хлорофілу в листках конопель посівних визначали методом Т.Н. Годнева в інтерпретації О.П. Осипової [6]. Для визначення кількості загального і вільного хлорофілу використовували розчинник — концентрований (960) і розбавлений (600) етиловий спирт; різниця між другою і першою величинами дає результат кількості зв'язаного в білково-ліпоїдному комплексі хлорофілу.

Дослідження проводили в лабораторії фізіології Інституту садівництва НААН. Флуоресценцію хлорофілу активували і реєстрували з верхньої поверхні листкової пластинки (палісадна паренхіма) впродовж 3 хв, після чого на рідкокристалічному моніторі приладу отримували графік. Надалі результати аналізу з приладу передавали на комп'ютер.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Процеси фотосинтезу рослин відбуваються у спеціалізованих пластидах — хлоропластах, що на внутрішніх біологічних мембранах мають реакційні центри і відповідні «антени» з молекулами хлорофілів, які вловлюють кванти сонячної енергії ФАР. У рослині конопель, як і у інших вищих рослин, у хлоропластах існує кілька форм хлорофілу, насамперед — *a* і *b* [7].

У листках конопель посівних частка хлорофілу *a* є завжди істотно більшою порівняно з хлорофілом *b*. Співвідношення основних форм хлорофілу у хлоропластах може змінюватись: частка хлорофілу *b* може становити 24–35% від кількості

хлорофілу *a*. Усі форми хлорофілу є своєрідними їх модифікаціями для виконання специфічних функцій, які виникають внаслідок змін молекул головного з них — хлорофілу *a*.

Кожна з форм хлорофілу виконує різну роль у процесі фотосинтезу. До реакційних центрів у хлоропластах листків конопель, де відбуваються процеси фотосинтезу і формування органічних речовин, входять лише молекули хлорофілу *a*. До складу «антен», що концентрують та передають електрони збуджених молекул до реакційних центрів, входять молекули обох форм хлорофілу — *a* і *b* [8].

Уся складна оптична система, що налічує, крім молекул хлорофілу, ще і молекули цитохромів, пігменти, ферменти, феродоксини та інші речовини, діє узгоджено, швидко і точно. Зміни рівня освітленості листків призводять до відповідної зміни у структурі різних форм хлорофілу. Посилення рівня затінення листкових пластинок підвищує вміст у хлоропластах молекул хлорофілу *b*, який називають «тіньовим хлорофілом». Вигини біологічних мембран у хлоропластах створюють складну просторову структуру органодів: ламел, гран, що з'єднані між собою тилакоїдами [9, 10].

Світловий етап процесів фотосинтезу відбувається на мембранах ламел, а тіньовий — у структурованій рідині — стромі, що заповнює хлоропласт. Функціонування оптичної системи листків рослин культури забезпечує максимальну продуктивність процесів фотосинтезу під час вегетації і змін рівня освітленості листків [11].

Фотосинтез рослин конопель посівних відбувається шляхом C_3 . Тобто першою органічною речовиною, яка буде сформована у процесі фотосинтезу, є вуглевод — тріоза, що містить три атоми вуглецю. Наступне поєднання двох молекул тріози зумовлює формування глюкози, головного вуглеводу для більшості живих організмів, у т.ч. і конопель посівних. Оптимальна температура, яка забезпечує найвищий рівень інтенсивності процесів фотосинтезу у рослин, що відбувається шляхом C_3 , є 19–25°C. Від-

повідно, найвищою оптимальною температурою у процесі вегетації для посівів конопель посівних є саме такий температурний діапазон [12].

Уміст обох форм хлорофілу у листових пластинках конопель посівних упродовж органогенезу рослин змінюється. Від появи сходів рослин культури на поверхні ґрунту у надземних частинах розпочинається процес формування і поступове підвищення його концентрації. Максимальні показники концентрації суми хлорофілу у листових пластинках рослини конопель посівних були зафіксовані у фази бутонізації і цвітіння (віргінальний та генеративний етапи органогенезу). Наприклад, у рослин конопель посівних сорту Глесія максимальна сума обох форм хлорофілу у цей період вегетації становила 3,08 мг/г, або перевищувала середні показники на 22% (табл.). Після генеративного етапу органогенезу (у сенільному етапі) концентрація обох форм хлорофілу у листках поступово зменшувалась.

На показники концентрації хлорофілу має вплив і місце розміщення листових пластинок на рослинах конопель у посівах. Величина суми форм хлорофілу у листках, що розміщені на 40 см і на 1 м нижче від верхівки, є близькою. Проте у листках, розміщених нижче 1 м від верхівки, концентрація хлорофілу *b* була вищою порівняно з концентрацією у листках з верхнього ярусу посівів на 19%, що у середньому становить 0,98 мг/г. Відповідно, вміст хлорофілу *a* у таких листках був меншим. Загальна сума обох форм хлорофілу у листках, що розміщені нижче 1 м від верхівок рослин, становила в середньому 3,02 мг/г, або 98,1% від відповідних показників у листках біля верхівки.

Зміни співвідношення різних форм хлорофілу є результатом змін інтенсивності світлового потоку (насамперед енергії ФАР) на різній оптичній глибині посівів. Ослаблення світлового потоку внаслідок взаємного затінення рослин призводить до відповідної компенсаційної реакції у рослин культури збільшенням частки хлорофілу *b* у хлоропластах.

Анатомічна будова листків рослин конопель посівних проявляє вплив на вміст обох форм хлорофілу у листових пластинках. Найбільша концентрація хлоропластів (майже 80% від об'єму цитоплазми клітин у стовбчастій хлоренхімі становлять хлоропласти) розміщується у верхній частині листових пластинок. Це тонкий шар, що становить не більше кількох десятків клітин, які мають видовжену вертикальну форму і щільно розміщені одна біля одної. Основну частину внутрішнього простору листових пластинок, крім судинно-волокнистих пучків (жілок), займає губчаста хлоренхіма, що має відносно великі клітини, які теж містять хлоропласти, проте їх концентрація є набагато меншою порівняно зі стовбчастою. До того ж у губчастій хлоренхимі існує значна кількість пор і повітряних ходів, що дає змогу повітрю атмосфери, яке містить вуглекислий газ (CO_2), через продихи (переважно з нижнього боку листових пластинок) і продихові «дворики» легко дифундувати до клітин, де відбуваються процеси фотосинтезу.

Так, на одиницю поверхні листових пластинок (дм^2) середня кількість суми форм хлорофілу у рослин сорту Глесія впродовж вегетаційного періоду становила 2,54 мг/ дм^2 . З них: хлорофіл *a* — 1,87 мг/ дм^2 , або 73,6% від загальної кількості; хлорофіл *b* — 0,68 мг/ дм^2 , або 26,4% відповідно (табл.).

На показники вмісту хлорофілу обох форм у листових пластинках конопель посівних істотно впливають і сортові особливості рослин культури. Проведені аналізи концентрації хлорофілу *a* у листках сортів конопель, що були об'єктами досліджень, виявили істотну різницю показників.

Із восьми сортів найбільша середня концентрація хлорофілу *a* у фазу цвітіння була зафіксована у листках рослин сорту Гляна — 3,52 мг/г. Найменша — 1,8 мг/г — у листках рослин сорту Глухівські 85 у цей самий період розвитку.

Найбільша концентрація у листових пластинках хлорофілу *b* — 1,34 мг/г — також була зафіксована у рослин сорту Гля-

**Динаміка структурних змін за вмістом хлорофілу в листках сортів конопель посівних
за фазами розвитку**

Сорти	Хлорофіл, мг/г			Хлорофіл, мг/дм ²		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a + b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a + b</i>
<i>Фаза цвітіння</i>						
Артеміда	2,46	1,03	3,49	1,71	0,71	2,42
Гармонія	2,80	0,77	3,57	1,95	0,55	2,50
Глесія	2,26	0,82	3,08	1,87	0,68	2,54
Глухівські 51	3,00	1,30	4,30	2,10	0,90	3,00
Глухівські 85	1,80	0,82	2,62	1,26	0,57	1,83
Гляна	3,52	1,34	4,86	1,99	0,75	2,74
Золотоніські 15	2,68	1,16	3,83	2,04	0,88	2,93
Миколайчик	2,56	1,03	3,59	2,28	0,91	3,20
НІР ₀₅	0,4	0,2	0,6	0,3	0,1	0,4
<i>Фаза технічної стиглості</i>						
Артеміда	2,40	0,99	3,39	1,77	0,68	2,45
Гармонія	2,71	0,83	3,54	1,92	0,55	2,47
Глесія	2,27	0,78	3,05	1,85	0,60	2,45
Глухівські 51	2,95	1,26	4,21	2,16	0,89	3,05
Глухівські 85	1,86	0,78	2,64	1,32	0,58	1,90
Гляна	3,48	1,40	4,88	1,925	0,71	2,64
Золотоніські 15	2,74	1,12	3,86	2,20	0,86	3,06
Миколайчик	2,52	0,93	3,45	2,24	0,87	3,11
НІР ₀₅	0,3	0,1	0,2	0,6	0,5	0,3
<i>Фаза біологічної стиглості</i>						
Артеміда	1,56	0,13	1,69	0,81	0,19	1,00
Гармонія	1,90	0,09	1,99	1,05	0,35	1,40
Глесія	1,36	0,08	1,44	0,97	0,22	1,19
Глухівські 51	2,10	0,40	2,5	1,20	0,06	1,26
Глухівські 85	0,90	0,15	1,05	0,36	0,30	0,66
Гляна	2,62	0,44	3,06	1,09	0,15	1,24
Золотоніські 15	1,78	0,26	2,04	1,14	0,09	1,23
Миколайчик	1,66	0,13	1,79	1,38	0,04	1,42
НІР ₀₅	0,6	0,1	0,4	0,5	0,3	0,3

на. Найменша — 0,77 мг/г — у листових пластинках сорту Гармонія.

Сума форм хлорофілу a і b у листових пластинках різних сортів найбільшою була у період цвітіння рослин сорту Гляна — 4,86 мг/г, найменша — у сорту Глухівські 85 — 2,62 мг/г.

Концентрація хлорофілу на одиницю площі поверхні листових пластинок рослин конопель посівних у різних сортів була неоднаковою. Найвищі показники концентрації хлорофілу a — 2,28 мг/дм² — були у рослин сорту Миколайчик, що може бути обумовлено специфікою анатомічної будови хлоренхіми листових пластинок і різним рівнем розвитку губчастої хлоренхіми.

Найменша концентрація хлорофілу a на одиницю площі була зафіксована у рослин сорту Глухівські 85 — 1,26 мг/дм².

Відповідно, концентрація в листових пластинках хлорофілу b на одиницю площі була найбільшою у рослин сорту Миколайчик — 0,91 мг/дм², а найменшою — 0,55 мг/дм² — у рослин сорту Гармонія у фазу цвітіння.

За показниками концентрації суми обох форм хлорофілу a і b на одиницю площі листових пластинок найвищі показники (3,2 мг/дм²) були зафіксовані у рослин сорту Миколайчик, а найнижчі (1,83 мг/дм²) — у рослин сорту Глухівські 85. Різниця показників концентрації суми обох форм хлорофілу у рослин різних сортів досягала 42,8%, тобто була достовірною.

Співвідношення вмісту хлорофілу a і хлорофілу b у листових пластинках рослин різних сортів конопель посівних теж істотно відрізнялось. Найбільша різниця була зафіксована у сорту Гармонія. На одну молекулу хлорофілу b хлоропласти рослин цього сорту мали у 4,3 раза більше молекул хлорофілу a . Найменше співвідношення між обома формами хлорофілу було за-

фіксовано у листових пластинок рослин сорту Глухівські 85, де на одну молекулу хлорофілу b у хлоропластах припадало 1,83 молекули хлорофілу a .

Результати аналізів вмісту обох форм хлорофілу у листових пластинках рослин колекції сортів конопель посівних свідчать, що використані у дослідях сорти мають істотні відмінності як на рівні анатомічної будови, так і на рівні процесів біохімізму. Такі відмінності проявляються не лише у апараті фотосинтезу, а і в реакціях обміну речовин, у т.ч. у водному балансі на рівні тканин у рослин культури.

ВИСНОВКИ

Співвідношення основних форм хлорофілу у хлоропластах листків рослин конопель посівних може змінюватись, і частка хлорофілу b може варіювати у межах 24–35% від вмісту хлорофілу a .

Уміст обох форм хлорофілу у листових пластинках конопель посівних упродовж органогенезу рослин змінюється. Максимальних показників концентрації суми обох форм хлорофілу у листових пластинках рослини досягали у фазу цвітіння (генеративний етап органогенезу), мінімальний — за біологічної стиглості.

Результати досліджень засвідчили істотні відмінності як на рівні анатомічної будови, так і на рівні процесів біохімізму сортів конопель посівних, що доцільно враховувати у процесі їх оцінки і вибору для вирощування в конкретних ґрунтово-кліматичних умовах.

Найвищий уміст хлорофілу a і b було зафіксовано у фазу цвітіння у листових пластинках сорту Гляна — 3,52 і 1,34 мг/г відповідно, найнижчий уміст хлорофілу a — у сорту Глухівські 85 (1,80 мг/г), хлорофілу b — Глухівські 85 і Глесія (0,78 мг/г).

ЛІТЕРАТУРА

- Годнев Т.Н. Хлорофилл, его строение и образование в растении / Т.Н. Годнев. — Минск: Изд-во АН БССР, 1963. — 124 с.
- Genty B. The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence / B. Genty, J.-M. Briantais, N.R. Baker // *Biochemistry et Biophysica Acta*. — 1989. — Vol. 1. — P. 87–92.
- Тарчевский И.А. Хлорофилл и продуктивность сельскохозяйственных растений / И.А. Тарчевский. — М.: Наука, 2002. — 237 с.

4. Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теоретические основы применения метода / В.С. Лысенко, Т.В. Вардуни, В.Г. Соьер, В.П. Краснов // *Фундаментальные исследования*. — 2013. — № 4. — С. 112–120. — (Серия: Биологические науки).
5. Genty B. The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence / B. Genty, J.-M. Briantais, N.R. Baker // *Biochimica et Biophysica Acta*. — 1989. — No. 990. — P. 87–92.
6. Осипова О.П. Об извлекаемости хлорофилла из зеленых растений / О.П. Осипова. — М.: ДАН СССР, 1947. — Т. 57, № 8. — С. 799–801.
7. Лебедев С.И. Физиология растений / С.И. Лебедев. — 3-е изд. — М.: Агропромиздат, 1988. — 544 с.
8. Тарчевский И.А. Хлорофилл и продуктивность сельскохозяйственных растений / И.А. Тарчевский. — М.: Наука, 2002. — 237 с.
9. Сытник К.М. Физиология листа / К.М. Сытник, К.И. Мусатенко, Т.К. Богданова. — К.: Наукова думка, 1978. — 392 с.
10. Green B.R. The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis / B.R. Green, D.G. Durnford // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* — 1996. — No. 47. — P. 685–714.
11. Brenneisen R. Chromatographic and spectroscopic profiles of Cannabis of different origins / R. Brenneisen, M.A. El Sohly // *J. Forensic Sci.* — 1988. — Vol. 33 (6). — P. 1385–1404.
12. Липатов В.И. Научные основы коноплеводства в среднем Поволжье: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук / В.И. Липатов. — Л.; Пушкино, 1995. — 38 с.

REFERENCES

1. Godnev, T.N. (1963). *Hlorofill, ego stroenie i obrazovanie v rastenii [Chlorophyll, its structure and formation in a plant]*. Minsk: Izd-vo AN BSSR [in Russian].
2. Genty, B., Briantais, J.-M., Baker, N.R. (1989). The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1, 87–92 [in English].
3. Tarchevskiy, I.A. (2002). *Hlorofill i produktivnost' sel'skohozyajstvennyh rastenij [Chlorophyll and productivity of agricultural plants]*. Moscow: Nauka [in Russian].
4. Lysenko, V.S. & Varduni, T.V. & Soyev, V.G. & Krasnov, V.P. (2013). Fluorescenciya hlorofilla rastenij kak pokazatel' ehkologicheskogo stressa: teoreticheskie osnovy primeneniya metoda [Fluorescence of chlorophyll plants as an indicator of environmental stress: the theoretical basis of the method]. *Fundamentalnye issledovaniia — Fundamental study*, 4, 112–120 [in Russian].
5. Genty, B., Briantais, J.-M., Baker, N.R. (1989). The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 990, 87–92 [in English].
6. Osipova, O.P. (1947). *Ob izvlekaemosti hlorofilla iz zelenyh rastenij [About recoverability of chlorophyll from green plants]*. (Vol. 57, 8). Moscow: DAN SSSR [in Russian].
7. Lebedev, S.I. (1988). *Fiziologiya rastenij [Plant physiology]*. Moscow: Agropromizdat [in Russian].
8. Tarchevskiy, I.A. (2002). *Hlorofill i produktivnost' sel'skohozyajstvennyh rastenij [Chlorophyll and productivity of agricultural plants]*. Moscow: Nauka [in Russian].
9. Sytnik, K.M. & Musatenko, K.Y. & Bogdanova, T.K. (1978). *Fiziologiya lista [Leaf physiology]*. Kiev: Naukova dumka [in Russian].
10. Green, B.R., Durnford, D.G. (1996). The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 47, 685–714 [in English].
11. Brenneisen, R., El Sohly, M.A. (1988). Chromatographic and spectroscopic profiles of Cannabis of different origins. *J. Forensic Sci*, 33, 6, 1385–1404 [in English].
12. Lipatov, V.I. (1995). *Nauchnye osnovy konoplevodstva v srednem Povolzh'e [The scientific basis of hemp in the middle Volga region]. Extended abstract of Doctor's thesis*. Leningrad; Pushkino [in Russian].