

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ВМІСТОМ КАНАБІНОЇДІВ І МОРФОЛОГІЧНИМИ ОЗНАКАМИ ЗАЛОЗИСТИХ ВОЛОСКІВ КОНОПЕЛЬ

Мигаль М.Д., доктор біологічних наук, професор

Кмець І.Л., кандидат сільськогосподарських наук

ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ ЛУБ'ЯНИХ КУЛЬТУР ІСГПС НААН

Установлено особливості взаємозв'язку між морфологічними ознаками залозистих волосків і вмістом канабіноїдів конопель в контексті створення ненаркотичних сортів як метод боротьби з наркоманією.

Боротьба з наркоманією, пов'язаною з використанням рослинної сировини, у тому числі й конопель, – важлива суспільна проблема, до вирішення якої, крім правоохоронних органів, залучена також наука. У теперішній час створено ненаркотичні сорти конопель з дуже низьким вмістом канабіноїдів і навіть з відсутністю їх [1, 2]. Однак селекція ненаркотичних сортів конопель потребує подальшого теоретичного і методичного вивчення добору рослин, оскільки дана ознака рецесивна і характеризується високим ступенем мінливості. Ненаркотичність сортів підтримується в потомстві завдяки ретельному добору елітних рослин і строгої ізоляції їх від інших посівів конопель.

Відомо, що канабіноїди в основному локалізуються у залозистих волосках. Тому природно виникає питання, чи змінюються у ненаркотичних сортів морфологічні ознаки залозистих волосків і чи можна у зв'язку з цим використовувати в селекції особливості взаємозв'язку названих ознак.

В. П. Сорока [3, 4] вказує, що зі збільшенням кількості залозистих волосків на листках і оцвітinah жіночих квіток підвищується і показник вмісту наркотичних речовин, а відтак залозисті волоски можуть слугувати ознакою добору елітних рослин. Добір рекомендовано здійснювати за показниками меншої кількості залозистих волосків на одиниці площі оцвітini жіночих квіток або листків.

Відсутність залозистих волосків на оцвітinah пов'язана з відсутністю канабіноїдів. Даний спосіб був зареєстрований як винахід. Зі збільшенням кількості волосків на оцвітini жіночих квіток підвищується вміст канабіноїдів [5, 6].

Виходячи з наведених літературних даних, впливає позитивний висновок взаємозв'язку ознак. Проте рекомендований метод так і не був застосований в селекції. Фактично добір рослин проводиться за вмістом канабіноїдів. І як результат, отримано ненаркотичні сорти конопель. Цей факт свідчить про те, що зв'язок між морфологічними ознаками залозистих волосків і вмістом канабіноїдів досліджено недостатньо, що

виникає необхідність у більш поглибленому вивченні й обговоренні цього питання.

Ми ставили перед собою завдання установити особливості прояву взаємозв'язку між вмістом канабіноїдів у рослинах конопель і морфологічними ознаками залозистих волосків, залучивши до експерименту значну кількість об'єктів дослідження.

Матеріал і методика досліджень. Для дослідження взаємозв'язку між ознаками вмісту канабіноїдів і морфологічних ознак залозистих волосків було залучено 16 сортів різного походження, сорти поділено на дві рівні групи – з високим (8,80–45,36 бала) і дуже низьким (0,12–0,91 бала) вмістом канабіноїдів. Останні сорти відносяться до ненаркотичних, тому що така мізерна кількість цих речовин абсолютно не діє на людський організм. У іншому досліді на 23 сортах вивчали зв'язок між частиною поверхні оцвітин жіночих квіток, покритою залозистими волосками, і вмістом канабіноїдів.

Коноплі вирощували в оціночному розсаднику, густина рослин 50 x 5 см. У фазі стиглості по кожному сорту в 15 рослин зрізували суцвіття, які висушували в провітрюваному приміщенні в паперових пакетах. Висушені суцвіття в лабораторних умовах були використані для дослідження морфологічних ознак залозистих волосків і визначення вмісту канабіноїдів. Будову волосків вивчали з допомогою мікроскопа МБС-10 при збільшенні окуляра 4^x і об'єктива 8^x , а вимірювання їх – при окулярі 8^x і об'єктиві 4^x . Густану волосків визначали на площі 16 мм^2 опуклої частини оцвітини жіночих квіток. Вміст канабіноїдних речовин установлювали методом тонкошарової хроматографії. У статті показана сумарна кількість трьох компонентів канабіноїдів: канабідіола (КБД), тетрагідроканабінола (ТГК) і канабінола (КБН).

Дослідження проводили в 2008–2010 рр.

Результати досліджень. У конопель виділено три типи залозистих волосків: цибулиноподібні (ЦПВ), головчато-прикріплені (ГПВ) і головчато-стебельцеві (ГСВ). ЦПВ характеризуються невеликим розміром головок і ніжок (стебелець). У ГПВ формуються головки з дуже короткою, зовні невидимої одноклітинної ніжки, тому головки здаються сидячими. ГСВ складаються з головки і довгого стебельця [7]. Дана класифікація залозистих волосків стала загальноприйнятою в подальших експериментах багатьох авторів.

Як показують наші результати досліджень, величина діаметра головок різних типів залозистих волосків достовірно відрізняється незалежно від вмісту канабіноїдних речовин (табл. 1.). У сортів з високим вмістом канабіноїдів достовірність різниці між діаметром головок ГПВ і ЦПВ становить $P < 0,001$ (91,3 проти 51,3 мкм), а між діаметром ГСВ і ГПВ – $P < 0,01$ (120,0 проти 91,3 мкм). Аналогічна закономірність різниці між розміром головок залоз відмічено і в групі ненаркотичних сортів.

Таблиця 1 – Взаємозв'язок між вмістом канабіноїдів і морфологічними ознаками залозистих волосків (середнє за 2008–2010 рр.)

Ознака	Сорти з високим вмістом канабіноїдів		Сорти з низьким вмістом канабіноїдів	
	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	V,%	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	V,%
Діаметр головок ЦПВ, мкм	51,3±6,8	29,4	43,2±7,1	30,3
Діаметр головок ГПВ, мкм	91,3±7,1 ^{***}	16,4	87,3±7,1 ^{***}	17,4
Діаметр головок ГСП, мкм	120,0±7,9 ^{**}	14,8	108,4±7,2 [*]	15,3
Загальна довжина ГСВ, мкм	339,7±26,2	20,4	329,1±29,2	22,1
Загальна густина волосків, шт./16 мм ²	23,9±2,4	22,6	21,5±1,3	21,7
Густина ЦПВ, шт./16 мм ²	3,8±0,5	49,6	3,6±0,5	40,2
Густина ГПВ, шт./16 мм ²	6,4±1,1 [*]	67,7	5,7±0,8 [*]	47,6
Густина ГСВ, шт./16 мм ²	13,7±1,4 ^{***}	41,1	12,2±1,0 ^{**}	31,0

*Примітка. Ступінь достовірності різниці визначено між ГПВ і ЦПВ та ГСВ і ГПВ: *P<0,05, **P<0,01 і ***P<0,001.*

Установлено, що в ненаркотичних сортів простежуються незначні зміни морфологічних ознак залозистих волосків порівняно із сортами з високим вмістом канабіноїдів. Зокрема показники діаметра головок усіх трьох типів волосків і загальної довжини ГСВ нижчі, але недостовірно на п'ятипроцентному рівні, тобто спостерігається тільки тенденція до зменшення параметрів. Акцентуємо увагу на тому, що на фоні такої величезної різниці між групами сортів за вмістом наркотичних речовин зміна морфологічних ознак залоз виглядає мізерною. Таким чином, ці відмінності не показують тісного позитивного зв'язку між досліджуваними ознаками. Залозисті волоски візуально розвиваються нормально на рослинах усіх сортів.

Схожу залежність ознак виявлено також за вмістом канабіноїдів і густиною залозистих волосків. На одній і тій же площі оцвітини жіночих квіток менша кількість розвивається ЦПВ, середня – ГПВ і більша – ГСВ. У сортів з високим вмістом канабіноїдів ці показники відповідно становлять 3,8; 6,4 і 13,7 шт., а у сортів з низьким вмістом цих речовин – 3,6; 5,7 і 12,2 шт.

Порівняння двох груп сортів показує: у ненаркотичних об'єктів дослідження параметри густоти всіх типів волосків менші, ніж у об'єктів дослідження з високим вмістом канабіноїдних речовин, але різниця, як і за розміром волосків, недостовірна.

Досліджено також ступінь мінливості показників розміру елементів структури залозистих волосків і їх густоти на оцвітині жіночих квіток. Коефіцієнт варіації значень діаметра головок і довжини волосків недостовірно більші у ненаркотичних сортів, ніж у сортів з високим вмістом канабіноїдів (рис. 1). Установлено, що в обох варіантах експерименту найбільш мінливими ознаками є величина головок ЦПВ (V=29,4 і 30,3 %) та загальна довжина ГСВ (20,4 і 22,1 %). Показники мінливості діаметра головок ГПВ і ГСВ нижчі й близькі між собою (15,3 і 17,4 %).

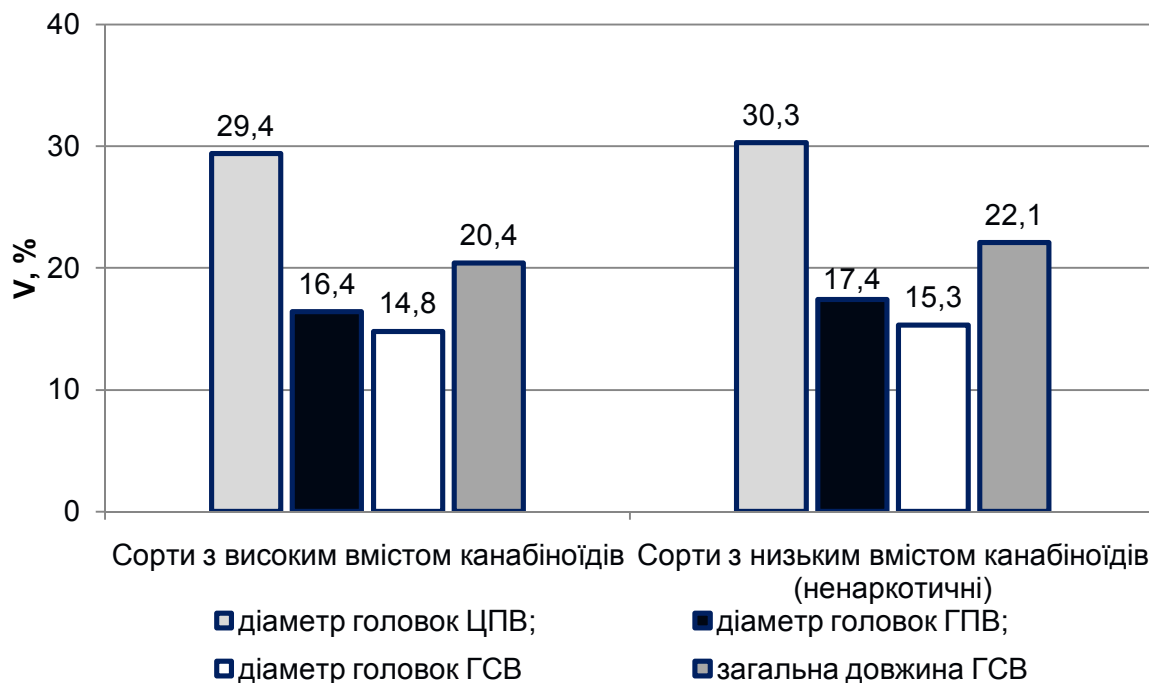


Рис. 1 – Коефіцієнти варіації показників морфологічних ознак залозистих волосків сортів конопель

Коефіцієнт варіації показників густоти залозистих волосків на відміну від параметрів морфологічних елементів структури їх значно вищі, особливо виділяються ГПВ: у сортів з високим вмістом канабіноїдів – 67,7 %, у ненаркотичних сортів – 47,6 % (рис. 2). Відмічено ще одну відмінність. Якщо показники ступеня мінливості елементів структури залозистих волосків у ненаркотичних сортів дещо вищі, ніж у сортів з високим вмістом наркотичних речовин, то ступінь мінливості значень густоти волосків, навпаки, у ненаркотичних сортів помітно нижчі.

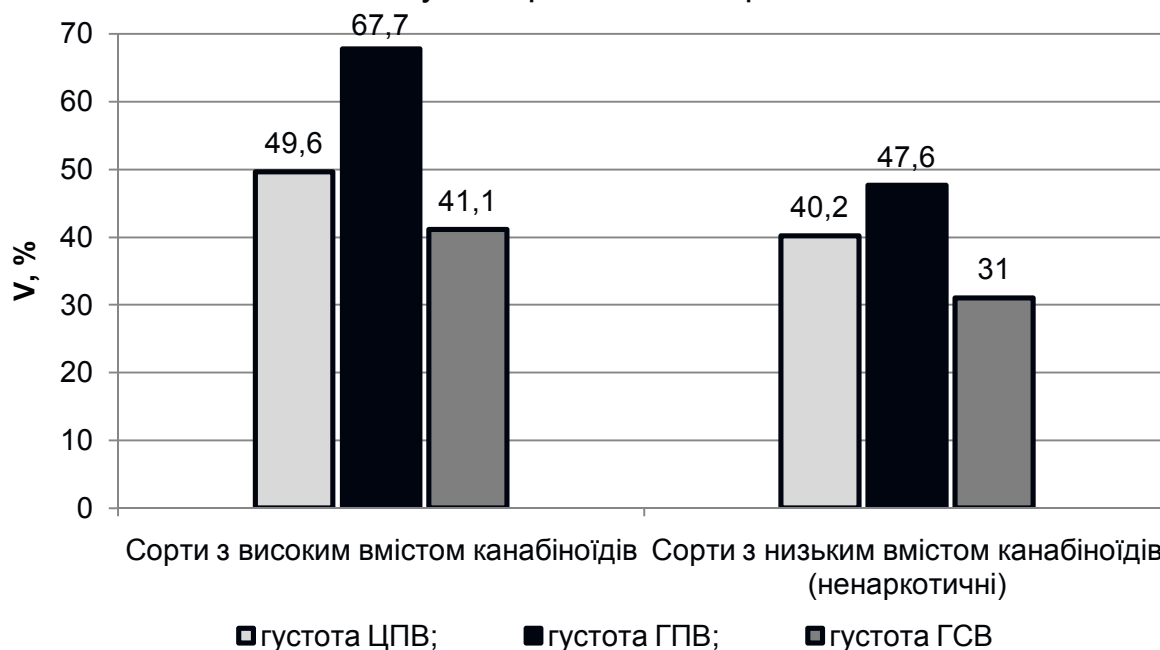


Рис. 2 – Коефіцієнти варіації показників густоти залозистих волосків сортів конопель

У рослин конопель залозистими волосками покриті дрібні листочки суцвіття та оцвітини жіночих квіток. За даною ознакою оцвітина особливо виділяється в кінці періоду вегетації рослин як засіб захисту плодів від шкідників і хвороб, створення умов для досягання насіння – органу відтворення наступних поколінь.

Установлено, що поверхня оцвітини сортів конопель покрита волосками неоднаковою мірою. Частина оцвітин, на якій утворилися залози, ми визначали візуально за такою шкалою: оцвітина повністю покрита – 100 %, $\frac{3}{4}$ поверхні – 75 %, $\frac{1}{2}$ поверхні – 50 %, менше $\frac{1}{2}$ поверхні – 25 % і відсутність волосків – 0 %.

У таблиці 2 показники досліджуваної ознаки поставлено в ранжированному порядку від найбільшого до найменшого значення. Як бачимо, у цілому частка оцвітин, що покрита залозистими волосками змінюється несутально: у 22 сортів коливається від 97 до 66 %. Лише сорт Золотоніські 28 виділяється помітно низьким параметром – 27 %.

Таблиця 2 – Відсутність прямої залежності між часткою оцвітини, покритої залозистими волосками, і вмістом канабіноїдів (2009 р.)

Сорт	Порядковий номер	Частка оцвітин, вкритих залозистими волосками, %	Загальний вміст канабіноїдів, бали	Діапазон лімітів, бали
Єрмаківські місцеві	1	97	42,8	3–20
Глухівські 48	2	95	0,7	0–3
Глера	3	95	4,1	0–25
Глухівські 10	4	94	30,2	0–20
Зоряна	5	93	0,8	0–20
ЮС-9	6	92	33,9	6–20
Глухівські 46	7	92	0,03	0–0,25
Глухівські 33	8	91	0,4	0–2
Глесія	9	91	0,1	0–0,50
ЮСО-16	10	91	19,1	0–20
Глухівські 77	11	90	2,3	0–10
Однодомні 9ЧС	12	88	33,6	0–20
Глухівські 51	13	83	1,3	0–3
ЮСО-31	14	83	0,5	0–1
Золотоніські 15	15	82	0,9	0–3
Глухівські 18	16	79	1,8	0–20
Однодомні 10ЧС	17	77	9,7	0–0,25
Глухівські 58	18	73	0,3	0–2
ЮСО-1	19	70	33,8	0,25–20
ЮСО-45	20	68	29,6	0–20
Глухівські 66	21	68	0,9	0–0,50
Гляна	22	66	1,6	0–3
Золотоніські 28	23	27	0	0–0

На перший погляд здається, що зі зменшенням кількості волосків на оцвітині зменшується і концентрація канабіноїдних речовин. Так, у сорту Єрмаківські місцеві, найвищі показники кількості і волосків, і канабіноїдів (97 % і 42,8 бала), а у сорту Золотоніські 28 – найнижчі (27 % і 0 балів). Однак проміжні сорти ранжируваного ряду показують, що це далеко не так. Дане явище особливо наочно підтверджує графічна ілюстрація показників (рис. 3).

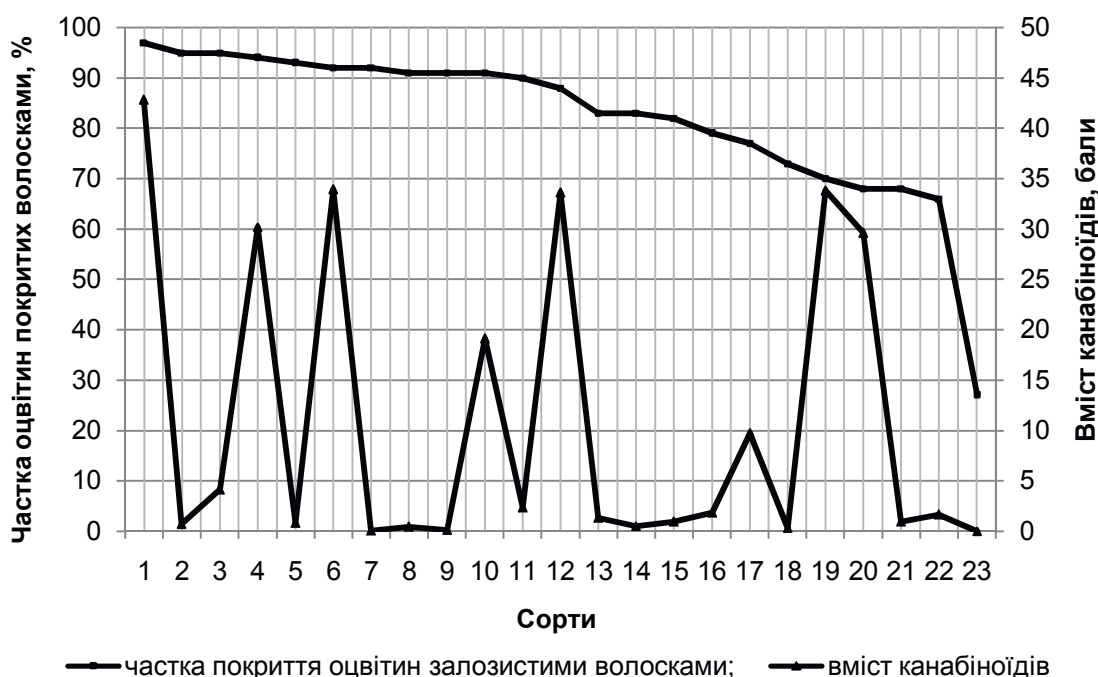


Рис. 3 – Відсутність прямої залежності між часткою оцвітини, покритої залозистими волосками, і вмістом канабіноїдів (порядковий номер сортів див. таблицю 2)

Виявляється, рівень вмісту канабіноїдів насамперед залежить від результатів селекції на елімінацію цих речовин, а не від кількості залозистих волосків на оцвітинах. У сортів, з якими селекція на ненаркотичність взагалі не проводилась або проводилась багато років тому (Єрмаківські місцеві, Глухівські 10, ЮС-9, ЮСО-1, ЮСО-16, ЮСО-45), сумарний вміст канабіноїдів високий, коливається від 19,1 до 42,8 бала. Показники частки оцвітин, покритих залозистими волосками, також високі – від 97 до 68 %, або різниця між лімітами складає 29 %, що вказує на сортові відмінності.

У сучасних селекційних сортів конопель вміст канабіноїдів сильно знизився, а кількість волосків змінилася малопомітно. У сорту Глухівські 46 вміст канабіноїдних речовин становить 0,03 бала, тоді як частка оцвітин, зайнята волосками – 92 %, тобто показник близький до сорту Єрмаківські місцеві. У сорту Глесія відповідно маємо 0,1 бала і 91 %, у сорту Глухівські 48 – 0,75 бала і 95 %, у сорту Зоряна – 0,8 бала і 93 %, у сорту Глухівські 33 – 0,4 бала і 91 %. Таким чином, у випадках

дуже низьких показників вмісту канабіноїдів частка оцвітин, покритих волосками, зменшується далеко неадекватно.

Особливий випадок відмічено у сорту Золотоніські 28. В усіх 15 досліджених рослин були відсутні канабіноїди, проте волоски розвивались на 27 % поверхні оцвітин.

Рослини з повною відсутністю залозистих волосків на оцвітині зустрічається дуже рідко. Тому провести повномасштабні експерименти з цього питання нам не вдалося. Однак відмічено, що дані рослини можуть як не містити, так містити в невеликій кількості канабіноїдні сполуки. Той факт, що оцвітини без залозистих волосків містять канабіноїди – явище зрозуміле, бо наркотичні речовини в незначних концентраціях присутні не тільки у волосках, але і в тканинах різних вегетативних і генеративних органів рослин конопель. Залозисті волоски – це лише вершина прояву ознаки, високоспеціалізована зовнішня видільна система.

Цікавими виявилися результати досліджень щодо варіації ознаки вмісту канабіноїдів у межах рослин одного сорту (навіть за невеликої вибірки). Лише у двох сортів дводомних конопель, у яких селекція на ненаркотичність взагалі не проводилась, відсутні рослини з нульовими показниками. Зокрема у сорту Єрмаківські місцеві вміст окремих складових канабіноїдів (КБД, ТГК і КБН) коливається в межах від 3 до 20 балів, а в сорту ЮС-9 відповідно – від 6 до 20 балів. Виявлено, що у сучасних селекційних сортів конопель, незважаючи на низький і дуже низький вміст канабіноїдів, у популяції буває вищеплюються поодинокі рослини з високим вмістом цих речовин. У сорту Глухівські 18 середня концентрація наркотичних речовин складає 1,8 бала, а в поодиноких рослинах окремі компоненти канабіноїдів досягають рівня 20 балів, у сорту Зоряна відповідно 0,8 і 20 балів, у сорту Глера – 0 і 25 балів. Таке рідкісне вищеплення «неочікуваних» рослин з високою концентрацією канабіноїдів є характерним явищем для сучасних сортів. Найнижчий рівень мінливості ознаки зафіксовано у сортів Глухівські 46 і Одноромні 10ЧС (0–0,25).

За результатами досліджень можна зробити наступне узагальнення. Елімінація канабіноїдів сучасним селекційним методом суттєво не впливає на зміну морфологічних ознак залозистих волосків. Вони розвиваються нормально як свідчення того, що, незважаючи на відсутність канабіноїдів, залози продовжують функціонувати в ролі зовнішньої видільної системи інших речовин, насамперед ефірної олії [8], селекція на елімінацію яких не проводиться.

Таким чином, аналіз вищенаведеного матеріалу показує, що метод добору рослин конопель за прямою ознакою – вмістом канабіноїдів – виявився ефективним, створено ненаркотичні сорти. При цьому зберігаються залозисті волоски, що відіграють певну роль в підтриманні життєздатності рослин.

Запропонований спосіб добору рослин конопель на елімінацію залозистих волосків [4, 5] практично не був застосований. Тому судити про його ефективність не представляється можливим. Однак в результаті проведення досліджень на 23 сортах конопель нами не виявлено позитивного зв'язку між кількістю залозистих волосків і вмістом канабіноїдів. Крім того, відсутність залозистих волосків не відомо як би вплинула на загальний стан розвитку рослин.

Висновки

1. У сортів конопель з низьким вмістом канабіноїдів або відсутністю їх, як і в сортів з високим вмістом цих речовин, на оцвітіннях жіночих квіток розвиваються залозисті волоски, проте вони на недостовірному рівні менші за розміром і утворюють меншу густоту.

2. Ступінь мінливості показників густоти залозистих волосків оцвітіння жіночих квіток значно вищий, ніж показників розміру їх.

3. Установлена відсутність позитивного зв'язку між густотою залозистих волосків на оцвітінні жіночих квіток і вмістом канабіноїдів у рослинах.

4. Зниження вмісту канабіноїдів у рослинах конопель методом добору за прямою ознакою не призводить до елімінації залозистих волосків, оскільки в них локалізуються не тільки канабіноїди, але й інші хімічні сполуки, селекція на елімінацію яких не проводиться. Це явище позитивне, бо волоски, як спадково обумовлений орган, відіграють певну роль в розвитку рослин конопель.

5. Добір рослин конопель за вмістом канабіноїдів теоретично і практично показав свою ефективність, що підтверджується створенням ненаркотичних сортів.

1. *Селекція* / В. Г. Вировець, І. М. Лайко, М. М. Орлов [та ін.] // Коноплі : [монографія] / [Вировець В.Г., Баранник В. Г., Гілязетдінов Р. Н. та ін.] ; за ред. М. Д. Мигалья, В. М. Кабанця. — Суми : Еллада, 2011. — С. 78—132.

2. *Мигаль Н. Д.* Конопле – быть! / Н. Д. Мигаль // Свет (Природа и человек). — 1991. — № 10—11. — С. 13—14.

3. *Сорока В. П.* Железистые волоски у конопли как признак отбора / В. П. Сорока // Селекция и семеноводство. — К., 1983. — Вып. 53. — С. 40—43.

4. *А. с. 990154*, СССР МКИ А01Н1 / 04. Способ отбора растений конопли на содержание каннабиноидов / В. П. Сорока (СССР). — № 3305340 / 30–15; заявл. 22.06.81 ; опубл. Б. Н. №3.

5. *Горшкова Л. М.* Каннабіс / Л. М. Горшкова. — Глухів : РВВ ГДПУ, 2008. — Ч. II. — 151 с.

6. *Степанов Г. С.* Селекция безнаркотических форм однодомной конопли : прошлые достижения и надежды на будущее / Г. С. Степанов, А. П. Фадеев, И. В. Романова // Селекция против наркотиков : II междунар. конф., 4–6 июл. 2007 г. — Пенза, 2007. — С. 43—58.

7. Hammond G. T. Morphogenesis of capitate glandular hairs of *Cannabis sativa* (Cannabinaceae) / G. T. Hammond, P. G. Mahlberg // Amer. J. Bot. — 1977. — V. 64. — P. 1023—1031.

8. Мигаль М. Д. Про запах рослин конопель у зв'язку з канабіноїдами / М. Д. Мигаль, І. Л. Кмець // Зб. наукових праць Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків. — Київ, 2012. — Вип. 14. — С. 482—487.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ КАННАБИНОИДОВ И МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ ЖЕЛЕЗИСТЫХ ВОЛОСКОВ КОНОПЛИ

Мигаль Н. Д., Кмець И. Л.

Установлены особенности взаимосвязи между морфологическими признаками железистых волосков и содержанием каннабиноидов конопели в контексте создания ненаркотических сортов как метода борьбы с наркоманией.

INTERCOMMUNICATION BETWEEN CANNABINOIDS CONTENT AND MORPHOLOGICAL SIGNS OF FERROUS HAIRSPRINGS OF HEMP

Myhal M.D., Kmets I.L.

The features of intercommunication between the morphological signs of ferrous hairsprings and cannabinoids content in hemp in the context of creation of drug-free varieties as a method of drug enforcement are set.