

## **ЗМІНА ОЗНАКИ ВМІСТУ КАНАБІНОЇДІВ У РОСЛИНАХ КОНОПЕЛЬ У ПОТОМСТВІ ДОБОРУ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ХІМІЧНИХ МУТАГЕНІВ**

*М.Д.Мигаль, доктор біологічних наук, професор,  
В.М.Рухленко, молодший науковий співробітник,  
І.М.Лайко, кандидат сільськогосподарських наук*

*ІНСТИТУТ ЛУБ'ЯНИХ КУЛЬТУР УААН*

*Показано характер зміни ознаки вмісту канабіноїдів у рослинах конопель внаслідок проведення трьох варіантів добору: без застосування хіммутагенів, з роздільним застосуванням хімічних мутагенів НЕС і НМС та сумісним використанням НЕС і НМС.*

Відомо, що хімічні мутагени змінюють як мікро-, так і макроознаки рослин, пов'язані з формуванням вегетативних і генеративних органів і елементів продуктивності та проходженням фізіолого-біохімічних процесів, про що свідчать численні експериментальні дані [1].

У попередніх публікаціях нами показано суттєвий вплив хімічних мутагенів нітрозоетилсечовини (НЕС) і нітрозометилсечовини (НМС) на зміну морфологічних ознак рослин конопель, описано частоту і спектр їх мінливості в потомстві  $M_1$ –  $M_3$  [2-4]. У даній статті повідомляється про результати застосування цих мутагенів у зв'язку з вивченням вмісту канабіноїдів у конопель.

Специфічною біологічною особливістю конопель є вміст канабіноїдів. До основних компонентів канабіноїдів відносяться тетрагідроканабінол (ТГК), канабінол (КБН) і канабідіол (КБД). Головною психотропною речовиною є ТГК.

Створення сортів конопель з відсутністю канабіноїдів або принаймні сортів з таким низьким вмістом цих речовин, кількість яких не викликала б психотропної дії на людину, – одне з важливих питань селекції. У цьому напрямку досягнуто значних успіхів [1,5,6]. Однак вміст канабіноїдів у рослинах конопель відноситься до нестійкої ознаки. Доводиться постійно проводити добір з метою підтримання досягнутого рівня зниження вмісту канабіноїдів. Новостворений гібридний матеріал або новий зразок іншого походження містять значну кількість наркотичних речовин. Селекція на їх зниження, а тим більше відсутність, розтягується на довгі роки. Тому дослідження, пов'язані з удосконаленням методів добору рослин конопель у цьому напрямку, є актуальними.

Вміст канабіноїдних сполук – кількісно-якісна ознака. Високий вміст цих речовин домінує над низьким вмістом або їх відсутністю [7,8,9,10].

Нами ставилось завдання провести добір рослин конопель на зниження канабіноїдів із залученням до експерименту додаткового прийому селекції – обробку насіння хіммутагенами. Інтерес до такої постановки питання викликаний тим, що хімічні мутагени – це речовини, які, можливо, здатні змінювати біохімічні ознаки на генотиповому рівні.

**Методика досліджень.** У якості вихідного матеріалу використано сорт однодомних конопель Глухівські 57, у якості мутагенів – НЕС і НМС. Насіння конопель обробляли мутагенами в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України в концентрації 0,05% -го водного розчину для НЕС і 0,025% -го для НМС. Експозиція – 18 год.

Досліди проводили впродовж 6 років. Здійснювали наступні варіанти добору елітних рослин, вирощених: без застосування мутагенів (2001-2002 рр.), з роздільним застосуванням мутагенів НЕС і НМС (2003-2004 рр.) та із сумісним використанням НЕС і НМС (2005-2006 рр.). Сумісне використання мутагенів здійснювали шляхом окремого намочування насіння НЕС і НМС з наступним перезапиленням рослин між собою в  $M_1$ .

Селекційний матеріал розмножували в ізольованих розсадниках. У фазі стиглості конопель добирали елітні рослини, які оцінювали за комплексом господарськоцінних ознак, у тому числі й за вмістом канабіноїдів. Густота посіву: міжряддя – 50 см, відстань між рослинами в рядках – 5-10 см. Вміст ТГК, КБН і КБД визначали методом тонкошарової хроматографії.

**Результати досліджень.** У природі кожна рослина конопель одночасно містить у собі три компоненти канабіноїдів – ТГК, КБН і КБД, але в різному співвідношенні. Найважливішим у селекції безнаркотичних речовин є насамперед добір рослин з відсутністю ТГК, як основного психотропного компонента канабіноїдів, за умов зниження також вмісту КБН і КБД. У зв'язку з цим нами більше уваги приділено інформації щодо зміни ознаки вмісту ТГК.

У досліді без застосування хімічних мутагенів у якості вихідних з урожаю 2000 р. було виділено 23 рослини, з яких 73,9% зовсім не містили ТГК (0 балів), а у 26,1% рослин вміст цієї речовини знаходився на рівні 1 бала (див. табл.). У потомстві добору кількість рослин без ТГК значно зменшилась (59,6%) порівняно з вихідним показником. У решти рослин вміст даного канабіноїда варіює в межах від слабких слідів до 8 балів.

*Таблиця – Зміна ознаки вмісту ТГК в селекційному матеріалі конопель у процесі добору*

Варіант досліджу	Рік	Селекційний матеріал	Кількість рослин, шт.	У тому числі рослин із вмістом канабіноїдів у балах													
				0	сл./сл.*	сл.*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	> 10
Без застосування мутагенів	2000	добір	23	73,9			26,1										
	2001	потомство	151	59,6	9,3	9,3	5,3	4,6	3,3	2,6	3,3	1,3	0,7	0,7			
	2001	добір	33	81,8	12,6	6,6											
	2002	потомство	169	42,6	15,4	12,4	8,3	7,7	1,2			1,2	0,6			4,1	6,5
Застосування НЕС	2002	добір	13	100													
	2003	потомство	203	87,5	3,5	1,0	3,5		2,0	1,5			0,5	0,5			
Застосування НМС	2002	добір	13	100													
	2003	потомство	68	80,8	1,5	4,4	1,5		1,5	2,9	1,5				2,9	1,5	1,5
Застосування НЕС	2003	добір	26	100													
	2004	потомство	203	77,4	4,4	9,4	5,8	2,0	0,5				0,5				
Застосування НМС	2003	добір	20	100													
	2004	потомство	146	70,5	9,6	6,2	3,4	4,1	1,4	2,8	2,0						
Застосування НЕС + НМС	2004	добір	36	100													
	2005	потомство	272	95,1	1,5	0,4	1,1		0,4	0,7	0,4	0,4					
Застосування НЕС + НМС	2005	добір	32	100													
	2006	потомство	169	93,5	2,9	1,8						0,6				1,2	

\*Сл./сл. – слабкі сліди; сл – сліди.

У другому доборі виділено 33 вихідні рослини, у тому числі 81,8 з відсутністю ТГК і 19,2% зі слабкими слідами та слідами. Незважаючи на те, що добір був кращим, ніж попередній, показники потомства знизились. Рослини без ТГК становили всього 42,6%. Решта рослин містила цю речовину в межах слабкі сліди – більше 10 балів, причому останній показник відмічено у 6,5% рослин.

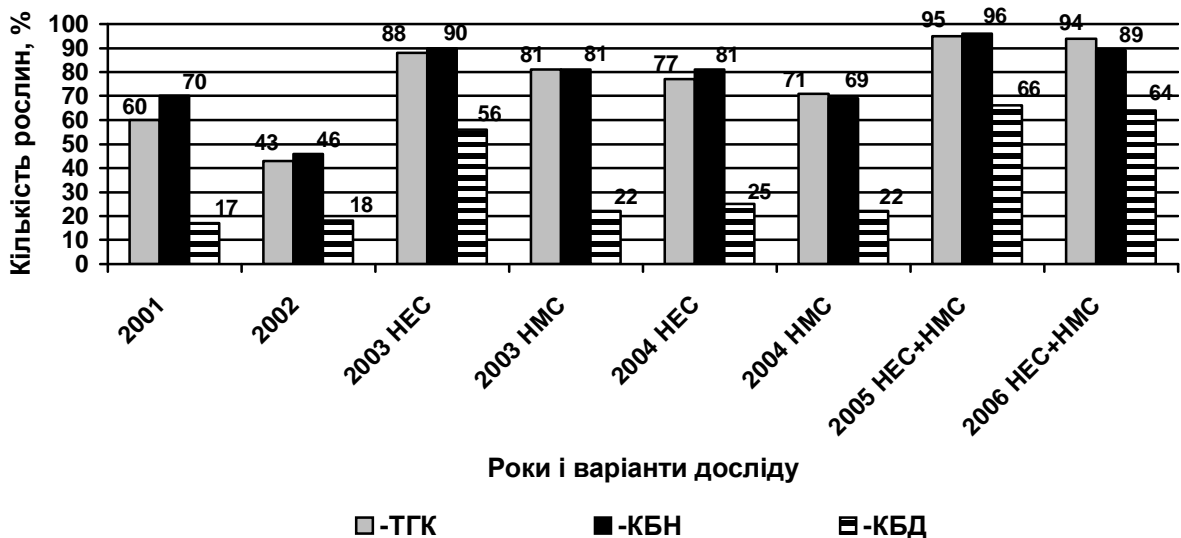
У варіанті із застосуванням НЕС кількість рослин з відсутністю ТГК більше ніж подвоїлася порівняно з варіантом без застосування мутагенів (87,5 проти 42,6%). Відповідно скоротилось число рослин, які містять ТГК – з 57,4 до 12,5%. У випадку із застосуванням НМС за рівних умов добору вихідних рослин одержано нижчі показники, ніж у варіанті з використанням НЕС: число рослин без ТГК становить 80,8, а з ТГК – 19,2%.

При повторному проведенні цього порівняльного дослідження підтвердилось аналогічне розходження між варіантами окремого застосування НЕС і НМС, щоправда, на нижчому рівні показників кількості рослин з відсутністю ТГК (приблизно на 10%).

Дворазове використання сумісного застосування двох мутагенів найбільше наближає параметри кількості рослин без ТГК в потомстві до відсутності (93,5-95,1%). Знизилась і варіація рослин за ознакою вмісту ТГК в балах (0,4-2,9%).

Подібна сильна варіація рослин конопель за показниками вмісту канабіноїдів у балах (які ми тут не наводимо) спостерігається не лише по ТГК, але й по КБН і КБД в усі роки досліджень, що характерно для зміни кількісних ознак у потомстві добору.

Що стосується зміни ознаки кількості рослин без ТГК в процесі добору у порівнянні з цією ж ознакою по КБН і КБД, то дані відмінності краще показати з допомогою графічної ілюстрації (див. рис.). Показники кількості рослин з відсутністю КБН в усі роки добору дуже близькі до показників ТГК, в окремі роки цифри навіть співпадають. Простежується й аналогічна відмінність щодо характеру впливу на канабіноїди досліджуваних мутагенів. У 2003 р. перевага НЕС над НМС за кількістю рослин з відсутністю ТГК становила 7%, з відсутністю КБН – 9%, у 2004 р., відповідно, 6 і 12%. Однаковий характер зміни кількості рослин з відсутністю ТГК і КБН в процесі добору й однакова позитивна дія мутагенів на ТГК і КБН засвідчують про те, що ознаки вмісту цих компонентів канабіноїдів генотипово зчеплені між собою.



*Рис. – Зміна кількості рослин сорту Глухівські 57 за ознакою відсутності канабіноїдів без використання і з використанням мутагенів HEC і HMC*

Зовсім по-іншому змінюється в потомстві добору ознака кількості рослин з відсутністю КБД. Якщо по ТГК і КБН, починаючи з 2003 р., виявилася можливість залучати для посіву стопроцентний добір вихідних рослин без згаданих речовин, то у цих же рослинах часто виявляється певна кількість КБД, особливо на перших етапах селекції. Селекція на відсутність КБД проходить значно повільніше і непослідовно, що чітко простежується на рисунку.

Застосування мутагенів і в цьому випадку показує перевагу HEC над HMC, однак характер впливу неоднозначний. У 2003 р. HEC забезпечила вихід рослин без КБД в кількості 56, а HMC тільки 22% рослин, або в 2,5 рази менше. У наступному, 2004 році ці параметри, відповідно, складають 25 і 22% рослин, або різниця зовсім незначна.

Отже, показник кількості рослин з відсутністю КБД підвищується в потомстві добору повільно і менш послідовно по відношенню до ТГК і КБН, що свідчить про різну природу спадковості компонентів наркотичних речовин і про необхідність у зв'язку з цим проведення більш поглибленого генетичного дослідження ознаки вмісту наркотичних речовин в рослинах конопель.

## Висновки

1. Унаслідок проведення шестиразового добору рослин конопель сорту Глухівські 57 на відсутність канабіноїдів показник вихідної ознаки зріс по ТГК з 60 до 94, по КБН – з 70 до 89 і по КБД – з 17 до 64%. Застосування хімічних мутагенів сприяє підвищенню показників добору. Однак при цьому HEC дає кращі результати, ніж HMC.

2. Ознаки вмісту ТГК і КБН генотипово тісно зчеплені між собою, тоді як ознака КБД не виявляє такої залежності. Рослини, які містять

канабіноїди, показують високий ступінь варіації вмісту цих речовин – від слабких слідів до більше 10 балів, чітко вказуючи на кількісний характер зміни цієї ознаки в процесі добору.

3. З метою підвищення ефективності селекції конопель на зниження вмісту канабіноїдів доцільно застосовувати хімічний мутаген НЕС шляхом замочування насіння у 0,025%-му водному розчині при експозиції 18 год.

1. *Моргун В.В.* Мутаційна селекція пшениці / В.Моргун, В.Логвиненко.– К.: Наукова думка, 1995. – 627 с.

2. *Мигаль М.Д.* Особливості зміни ознак рослин конопель, одержані в результаті застосування хіммутагенів (M<sub>3</sub>) /М.Д.Мигаль, В.М.Рухленко //Нові наукові дослідження у льонарстві та коноплярстві: Матеріали наук.-техн. конф. мол. вчених. – Суми: ІЛК, 2006. – С.39–47.

3. *Вировец В.Г.* Результаты украинской селекции однодомной посевной конопли, не обладающей наркотической активностью /В.Г.Вировец, И.М.Лайко, В.П.Ситник [та ін.] // Селекция против наркотиков: Материалы международной научной конференции. – Краснодар, 2004. – С.22–28.

4. *Голобородько П.А.* Создание сортов конопли, не обладающих наркотической активностью / П.А. Голобородько, В.Г.Вировец, И.И.Щербань // Международный журнал. – 1993. – № 4. – С.50–54.

5. *Мигаль М.Д.* Зміна ознак рослин конопель під впливом хіммутагенів / М.Д.Мигаль, В.П.Ситник, В.М.Рухленко //Нове в селекції, генетиці, технології вирощування, збиранні, переробці та стандартизації луб'яних культур: Матеріали наук.-техн. конф. мол. вчених. – Глухів: ІЛК, 2004. – С.35–44.

6. *Сенченко Г.И.* К вопросу изучения наследования тетрагидроканнабинола /Г.И.Сенченко, Л.М.Горшкова // Биология, возделывание и первичная обработка конопли и кенафа: Сб. научн. тр. ВНИИЛК. – Глухов, 1977. – № 40. – С.18–23.

7. *Мигаль Н.Д.* Особливості мутаційної зміни рослин конопель другого покоління, індукованого хіммутагенами /М.Д.Мигаль, В.М. Рухленко // Проблеми і перспективи в селекції, генетиці, технології вирощування, переробці та стандартизації луб'яних культур: Матеріали наук.-техн. конф. мол. вчених. – Глухів: ІЛК, 2006. – С.13–22.

8. *Лайко И.М.* Изменчивость содержания каннабиноидов в потомстве свободного размножения сортов конопли /И.М.Лайко, В.Г.Вировец, В.П.Ситник //Льяное дело. – 1997. – № 4. – С.25–28.

9. *Ситник В.П.* Генетический анализ различий по содержанию компонентов каннабиноидов у конопли *Cannabis sativa* L. /В.П.Ситник, А.Ф.Стельмах // Цитология и генетика. – 1997. – Т. 31. – № 4. – С.51–57.

10. *Сенченко Г.И.* Наркотическая активность конопли (*Cannabis sativa* L.) и перспективы селекции на снижение содержания каннабиноидов / Г.И.Сенченко, Л.М.Горшкова, В.Г.Вировец [та ін.] // Сельскохозяйственная биология. – 1991. – № 1. – С.35–49.