

ПОЛЯКОВА А. С.<sup>1✉</sup>, РАХМЕТОВ Д. Б.<sup>2</sup><sup>1</sup> Національний університет біоресурсів та природокористування України, Україна, 03041, м. Київ, вул. вул. Героїв Оборони, 15, email: lemma91@gmail.com<sup>2</sup> Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України, Україна, 01014, м. Київ, вул. Тімірязєвська, 1, e-mail: jamal\_r@bigmir.net

✉ lemma91@gmail.com, (050) 589-70-64

## ЗМІНА ВМІСТУ КАНАБІНОЇДНИХ РЕЧОВИН В ІНЦУХТ-ПОКОЛІНЬ CANNABIS SATIVA L. ЗА ВПЛИВУ ПЛЮС- І МІНУС-ДОБОРІВ

**Мета.** Визначити зміну структури інцухт-потомств за вмістом канабіноїдних речовин у рослин різних сортів конопель за впливу спрямованих плюс- і мінус-добрів. **Методи.** Ураховуючи лабільність природних фенолів-канабіноїдів, їх перетворення та ізомеризацію за впливу різних факторів, використовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ). Рослини сортів ЮСО 1 та Гляна в період бутонізації були заетиковані й окремо заізовані. **Результати.** Доборами рослин конопель в інцухт-потомствах протягом трьох років на зменшення вмісту канабіноїдів у сорту конопель ЮСО 1 та доборами на збільшення цих речовин у сорту Гляна доведено, що збільшення вмісту канабіноїдів відбувалося активніше, ніж його зменшення, що вказує на домінуючу ознаку канабіноїдів. За умови ізоляції, самозапилення і незалежно від плюс- і мінус-добрів за вмістом канабіноїдних речовин протягом трьох поколінь відбувалося зниження висоти рослин та утворення стерильності сортів. **Висновки.** Результати хроматографічних аналізів інцухт-поколінь за вмістом канабіноїдних речовин за впливу мінус- і плюс-добрів свідчать про їх домінуючу ознаку. Незалежно від проведення мінус- і плюс-добрів, за вмістом канабіноїдів за умови ізоляції і самозапилення висота рослин знижувалася.

**Ключові слова:** ТГК, КБД, КБН, КБДК, ТГКК.

Визначення біологічної сутності інцухту та дії його механізмів – складне і важливе завдання, вирішення якого має велике практичне значення. Поглиблення теоретичних основ селекції з використанням численних досліджень, які проводяться методами цитологічного, гібридологічного, біохімічного та математичного аналізів, значною мірою сприяють модернізації селекційної практики. Обґрунтовані теоретичні

положення активно сприяють практичній роботі.

Використання вегетаційного методу з регульованими умовами вирощування сприяє зняттю впливу деяких зовнішніх чинників середовища. Фактор зовнішніх умов набуває важливого значення для зменшення впливу модифікуючої дії середовища на вміст канабіноїдних сполук як кількісних ознак конопель.

Ретельна ізоляція сортів із різним вмістом зазначених речовин за умови плюс- і мінус-добрів суттєво впливає на вміст канабіноїдних сполук, що має важливе значення для практичної селекції.

### Матеріали і методи

У роботі використано сталий за вмістом канабіноїдів однодомний сорт конопель ЮСО 1 і сучасний однодомний сорт Гляна. Ураховуючи лабільність природних фенолів-канабіноїдів, використали метод ТШХ [1], який дозволяє зберігати в процесі аналізу природно сформоване співвідношення канабіноїдних сполук. Визначені сорти висівалися в умовах захищеного ґрунту на окремих ділянках. Кожна рослина сортів була етикована. У період масової бутонізації вони були ізовані. Для аналізу відбиралася верхня частина суцвіття – дрібні листки суцвіття і оцвіттини.

### Результати та обговорення

Ізоляція окремих рослин потомства сортів конопель ЮСО 1 і Гляна та аналіз рослин наступних інцухт-поколінь за умови добрив на зменшення або підвищення канабіноїдних речовин сприятиме визначенню зміни структури інцухт-поколінь за вмістом канабіноїдних сполук, а також їх диференціації за класами окремих нейтральних речовин – КБД, ТГК, КБН і природних кислот – ТГКК і КБДК. Диференціація сортового матеріалу за класами індивідуальних

канабіноїдних речовин дозволяє виявити певну варіабельність цих речовин.

У результаті досліджень встановлено, що відбувається зміна структури інцухт-поколінь за три роки у сорту конопель ЮСО 1 за вмістом канабіноїдних сполук за умови спрямованих доборів на зменшення їх вмісту (табл. 1).

Біохімічний аналіз I<sub>1</sub> інцухт-покоління показав, що всі проаналізовані індивідуальні етиковані рослини містили нейтральні сполуки – КБД, ТГК і КБН. За вмістом природних кислот – ТГКК і КБДК – визначена диференціація за класами цих речовин. Рослини з наявністю кислот 6 і > балів були відсутні.

У I<sub>2</sub> інцухт-поколінні визначена тенденція до зменшення кількості рослин із великим вмістом нейтральних речовин – КБД, ТГК і КБН та збільшилася кількість рослин, особливо за вмістом ТГК і КБН, з відсутністю та незначною їх кількістю як у дрібних листках суцвіття, так і в оцвітін. За вмістом кислот КБДК і ТГКК у дрібних листках суцвіття і оцвітін помічена диференціація рослин за цією ознакою.

У I<sub>3</sub> інцухт-поколінні продовжувалася диференціація рослин за класами канабіноїдів. Установлено значне збільшення кількості рослин із відсутністю канабіноїдних речовин або їх «слідами». За вмістом КБД і ТГК у I<sub>3</sub> поколінні порівняно з I<sub>1</sub> поколінням 28,57% і 42,84% рослин відповідно не містили цих сполук або містили їх «сліди». Щодо природних кислот встановлена протилежна залежність: зменшення кількості рослин із відсутністю кислот та збільшення кількості рослин зі значним їх вмістом.

Отже, результатами хроматографічних аналізів рослин сорту ЮСО 1, проведених методом ТШХ, визначена зміна структури інцухт-поколінь за вмістом канабіноїдних сполук. Протягом трьох поколінь за впливу мінус-добрів збільшувалася кількість рослин із відсутністю або з невеликим вмістом нейтральних речовин – КБД, ТГК і КБН. Протилежні закономірності визначені за природними кислотами – ТГКК і КБДК. Кількість рослин із відсутністю кислот зменшувалася, і, навпаки, кількість рослин зі значним їх вмістом збільшувалася.

Таблиця 1. Зміна структури інцухт-поколінь за вмістом канабіноїдних сполук за впливу спрямованих доборів на зменшення вмісту канабіноїдів, ЮСО 1, 2015–2017 рр.

Диференціація канабіноїдних сполук за класами, бали		I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>3</sub>
		Органи рослин взяті для аналізу			
		Суцвіття; дрібні листки оцвітін	Суцвіття; дрібні листки	Оцвітін	Суцвіття; дрібні листки оцвітін
		Кількість рослин, %			
КБД	0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,25-0,5	0,0	0,0	0,0	28,57
	1-5	70,0	100,0	98,07	67,86
	6 і >	30,0	0,0	1,93	3,57
ТГК	0	0,0	48,07	3,85	35,70
	0,25-0,5	0,0	1,93	30,77	7,14
	1-5	80,0	50,0	65,38	57,16
	6 і >	20,0	0,0	0,0	0,0
КБН	0	0,0	15,4	3,85	21,46
	0,25-0,5	0,0	3,9	13,46	3,57
	1-5	20,0	78,80	78,85	28,57
	6 і >	80,0	1,9	3,84	46,43
ТГКК	0	50,0	38,5	34,62	14,29
	0,25-0,5	20,0	23,0	25,0	0,0
	1-5	30,0	38,50	38,16	75,0
	6 і >	0,0	0,0	1,92	10,71
КБДК	0	30,0	0,0	1,92	14,29
	0,25-0,5	30,0	13,45	0,0	3,57
	1-5	40,0	82,70	69,23	78,57
	6 і >	0,0	3,85	28,85	3,57

На рисунку 1. графічно представлено вміст канабіноїдів у сорту конопель ЮСО 1 у  $I_1$  –  $I_3$  поколіннях. Протягом трьох років відбувалася зміна генетичної структури інцухт-покоління за вмістом канабіноїдних речовин за впливу спрямованих мінус-добрів на їх зменшення.

Виявлено, що потомство поступово переходило у гомозиготний стан. Одночасно з однодомним сортом конопель ЮСО 1 із сучасним однодомним сортом конопель Гляна проводилася робота на збільшення вмісту канабіноїдних сполук. На противагу сталому за вмістом канабіноїдних речовин сорту конопель ЮСО 1, сорт Гляна практично не містив психотоміметично активного ТГК і мав лише незначну кількість КБД. Визначена також незначна різниця за вмістом природних кислот – ТГКК і КБДК.

За впливу спрямованого плюс-доброру встановлена зміна структури інцухт-покоління за вмістом канабіноїдних сполук (табл. 2).

Хроматографічний аналіз індивідуальних рослин, проведений методом ТШХ, сорту конопель Гляна показав, що у  $I_1$  інцухт-покоління – 70%, 90% і 100% рослин за вмістом КБД, ТГК і КБН відповідно не містили цих речовин. Від 10% до 30% рослин мали зазначені сполуки у «слідових» кількостях й оцінені 0,25–0,5 бала. Рослини із значним вмістом нейтральних речовин і кислот були відсутні.

У  $I_2$  інцухт-покоління спостерігалася значна диференціація рослин за вмістом нейтральних речовин – КБД, ТГК і КБН. Визначена певна кількість рослин, у яких вміст канабіноїдних

сполук був оцінений 1–5 балами. Більш суттєва зміна структури інцухт-покоління зафіксована у значній кількості рослин за вмістом природних кислот – ТГКК і КБДК. У  $I_2$  інцухт-покоління збільшилася кількість рослин, вміст кислот у яких був оцінений високими балами – від 1 до 6 і більше.

Хроматографічним аналізом  $I_3$  інцухт-покоління виявлена більш значуща диференціація рослин за вмістом канабіноїдних речовин. Пропорційно зменшувалася кількість рослин із відсутністю як нейтральних речовин – КБД, ТГК, КБН, так і кислот – ТГКК і КБДК.

Отже, біохімічний аналіз рослин інцухт-покоління довів, що впродовж трьох років за впливу спрямованого плюс-доброру відбувалося поступове збільшення кількості рослин із підвищеним вмістом як нейтральних речовин, так і кислот.

За умови плюс-добрів значно збільшувався вміст КБД, що, очевидно, пов'язано зі значно більшою його кількістю у  $I_1$  покоління.

На рисунку 2 графічно представлено вміст канабіноїдів у сорту конопель Гляна у  $I_1$  –  $I_3$  поколіннях, 2015–2017 рр.

За результатами біохімічного аналізу встановлено, що відбувалося поступове збільшення вмісту як нейтральних речовин, так і особливо кислот. Визначена тенденція до біосинтезу у більшій кількості КБД і КБДК. Значної різниці за вмістом нейтральних речовин КБД, ТГК і КБН та кислот – КБДК і ТГКК між дрібними листками суцвіття і оцвіттин не виявлено.

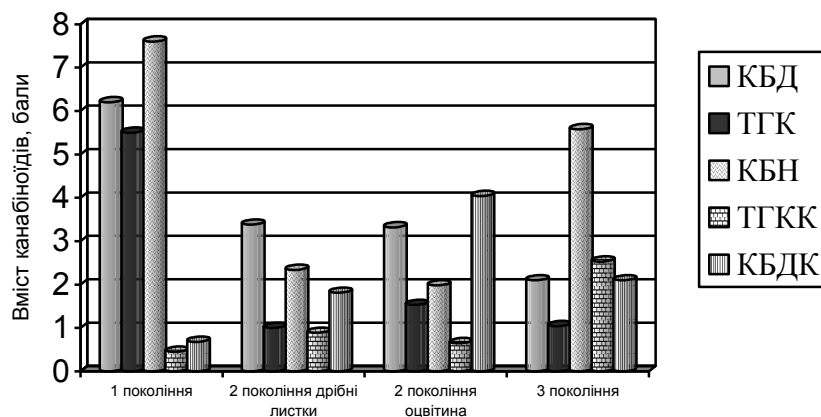


Рис. 1. Зміна вмісту канабіноїдних сполук у інцухт-поколіннях за впливу спрямованих мінус-добрів в однодомного сорту конопель ЮСО 1, 2015–2017 рр.

Таблиця 2. Зміна структури інцухт-поколінь за вмістом канабіноїдних сполук за впливу спрямованого плюс-добору на збільшення вмісту канабіноїдів, Гляна, 2015-2017 рр.

Диференціація канабіноїдних сполук за класами, бали		I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>3</sub>
		Органи рослин взятих для аналізу			
		Оцвіттина, дрібні листки суцвіття	Дрібні листки суцвіття	Оцвіттина	Оцвіттина, дрібні листки суцвіття
		Кількість рослин, %			
КБД	0	70,0	89,23	84,62	51,61
	0,25-0,5	30,0	4,62	12,30	19,35
	1-5	0,0	6,15	3,08	25,81
	6 і >	0,0	0,0	0,0	3,23
ТГК	0	90,0	90,77	96,92	93,55
	0,25-0,5	10,0	9,23	0,0	3,23
	1-5	0,0	0,0	3,08	3,22
	6 і >	0,0	0,0	0,0	0,0
КБН	0	100,0	95,38	96,92	74,19
	0,25-0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
	1-5	0,0	4,62	3,08	22,58
	6 і >	0,0	0,0	0,0	9,23
ТГКК	0	70,0	91,54	33,85	38,71
	0,25-0,5	0,0	0,0	24,61	12,90
	1-5	30,0	36,92	36,92	38,71
	6 і >	0,0	1,54	4,62	9,68
КБДК	0	80,0	9,23	6,10	35,48
	0,25-0,5	20,0	33,85	40,0	16,13
	1-5	0,0	47,69	52,4	38,71
	6 і >	0,0	9,23	1,50	9,68

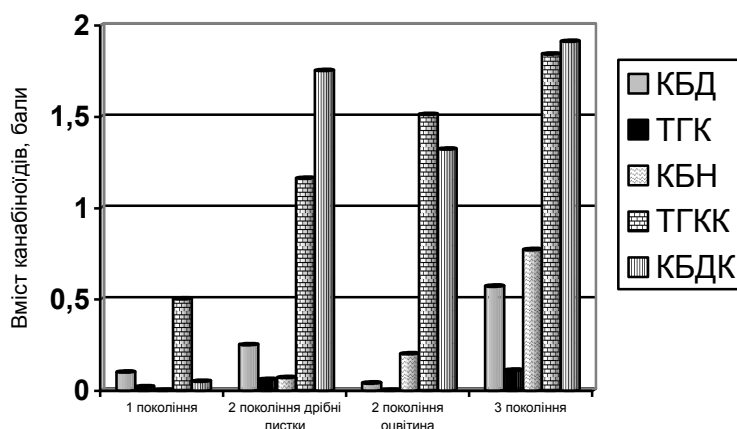


Рис. 2. Зміна вмісту канабіноїдних сполук у інцухт-поколінь за умови спрямованих плюс-добрів у сучасного однодомного сорту конопель Гляна, 2015–2017 рр.

Отже, самозапилення індивідуальних однодомних рослин і спрямовані плюс-добрив особин із більшим вмістом канабіноїдних речовин із потомства, яке не містило канабіноїдів або містило невелику їх кількість, сприяло зміні вмісту канабіноїдних сполук у бік їх збільшен-

ня. Встановлено, що відбувалася тенденція до поступового переходу потомства у гетерозиготний стан. Особливої уваги заслуговує факт збільшення кількості кислот КБДК і ТГКК.

Одночасно з визначенням канабіноїдних речовин у сортів конопель протягом трьох ін-

інцухт-поколінні визначалася висота, яка є показником росту і розвитку рослин. Висота рослин, як і інші показники росту і розвитку, визначається як генотипом, так і дією зовнішніх чинників, котрі впливають на рослину. Відомо, що генотип програмує межі мінливості рослинного організму. Від зовнішнього середовища залежить, яким буде розвиток організму в генетично запланованих рамках. Висота рослин кожного сорту є генетично зумовленою, і реалізація цієї властивості залежить від умов середовища.

Ізоляція і самозапилення рослин сортів конопель ЮСО 1 і Гляна протягом трьох поколінь зумовлювали зниження висоти рослин. Результати досліджень показали, що висота рослин  $I_2$  покоління сорту конопель ЮСО 1 знизилася на 9,22 см порівняно з висотою рослин  $I_1$  покоління. Висота рослин  $I_3$  покоління зменшилася порівняно з висотою  $I_2$  покоління на 15,04 см. Загальне зниження висоти інцухт-поколінні за три роки склало 24,06 см (табл. 3).

Визначені результати висоти рослин у сучасного однодомного сорту конопель Гляна були ще більш показовими (табл. 4) порівняно з сортом ЮСО 1.

За три роки ізоляції і самозапилення висота рослин цього сорту зменшилася на 51,78 см. Відповідно різниця висоти між  $I_1$  та  $I_2$  поколіннями становила 17,89 см, між  $I_2$  та  $I_3$  поколіннями – 33,89 см. Необхідно додати, що, починаючи з  $I_2$  покоління, у сортів конопель ЮСО 1 і

Гляна постійно спостерігалася наявність стерильних рослин, кількість яких у наступних поколіннях збільшувалася.

Отже, отримані результати досліджень свідчать, про те, що зменшення висоти рослин у наступних поколіннях не залежить від вмісту канабіноїдів. Незважаючи на плюс або мінус-доброри за вмістом канабіноїдних речовин, висота рослин щорічно знижувалася. Відбувалося утворення стерильних рослин, що стало негативним ефектом інцухту.

Відомо, що спрямований добір як основний чинник, що впливає на генотипові особливості потомства за вмістом канабіноїдів, представляє значний інтерес, тому ретельна ізоляція сортів із різним вмістом названих речовин буде мати важливе значення для практичної селекції.

Ч. Дарвін [2] уперше заговорив про цілеспрямованість застосування інцухту у рослин та інбридингу у домашніх тварин. Основний висновок Ч. Дарвіна, зроблений на основі значного фактичного матеріалу, достовірно засвідчив згубний вплив тривалого інцухту та інбридингу на потомство.

Подальший розвиток технологій у багатьох галузях наукових досліджень сприяв використанню передусім позитивних ефектів інцухту та правильної організації його застосування, що стало одним із важливих результатів у сучасній біології.

Таблиця 3. Залежність висоти рослин інцухт-поколінні однодомного сорту конопель ЮСО 1 від ізоляції і самозапилення, 2015–2017 рр.

Рік ізоляції і самозапилення	Висота рослин, см	Cv (%)	$\bar{x}$	S	$\pm = \frac{S}{\sqrt{n}}$
2015	172,05	23,68	172,05	40,7	$\pm 5,17$
2016	162,83	11,33	163,01	18,482	$\pm 2,539$
2017	147,79	14,13	147,79	21,328	$\pm 3,961$
Середнє	160,89	16,38	160,95	26,84	$\pm 3,89$

Таблиця 4. Залежність висоти рослин інцухт-поколінні однодомного сорту конопель Гляна від ізоляції і самозапилення, 2015–2017 рр.

Рік ізоляції і самозапилення	Висота рослин, см	Cv (%)	$\bar{x}$	S	$\pm = \frac{S}{\sqrt{n}}$
2015	202,1	16,12	202,1	32,6	$\pm 6,4$
2016	184,21	10,02	171,68	17,202	$\pm 2,071$
2017	150,32	14,59	150,32	21,940	$\pm 3,941$
Середнє	178,88	13,58	174,7	23,914	$\pm 4,14$

Сизов І. А. [3] уперше запропонував інцухт-метод на коноплях для закріплення одностомності, джерелом яких були спонтанні мутанти у потомстві гібридів, що розщеплювалися. Незважаючи на те, що було отримано загальне ослаблення потужності рослин, маса 1000 штук насіння складала 38,22 г.

Каплунова Р. І. [4] у дослідях із коноплями відзначала, що інцухт-метод викликає значне збільшення гомозиготності та, як наслідок, утворення генетичної диференціації селекційного матеріалу.

Л. М. Горшковою [5] встановлена зміна генетичної структури інцухт-потомства за впливу спрямованих мінус і плюс-добрів. В отриманому потомстві спостерігалось винесення домінантних генів і збільшення концентрації рецесивних або збільшення домінантних генів та зменшення концентрації рецесивних.

В. А. Серковим, Л. В. Климовою [6] за результатами роботи для практичної селекції було виділено 8 інцухт-ліній покоління  $I_6$  зі слідовим вмістом ТГК (менше 0,009%), відсутністю звичайної плосконі, високим вмістом олії (понад 32 %) та великим виходом загального волокна (більше 32 %).

Отже, спрямоване використання позитивних ефектів інцухту, а саме за вмістом канабіноїдних речовин, може використовуватися у прак-

тичній селекційній роботі зі створення сортів як зі знизеним вмістом ТГК, так і з підвищеним вмістом КБД. Установлена закономірність, суттєва для сорту конопель ЮСО 1, у якого виявлений достатньо високий вміст КБД порівняно із вмістом ТГК.

### Висновки

Добором рослин конопель в інцухт-потомствах протягом трьох років на зменшення вмісту канабіноїдів у сорту ЮСО 1 та доборами рослин на збільшення цих речовин у сорту Гляна доведено, що процеси збільшення вмісту канабіноїдів відбувалися активніше, ніж на їх зменшення, що вказує на домінантну ознаку канабіноїдів.

В однодомних сортах конопель ЮСО 1 і Гляна за впливу мінус- і плюс-добрів протягом трьох років у визначених інцухт-поколіннях відбувалося збільшення вмісту кислот – ТГКК і КБДК, що вказує на активніше їх накопичення порівняно з нейтральними речовинами.

В однодомних сортах конопель ЮСО 1 і Гляна за умови ізоляції і самозапилення та незалежно від проведених плюс- і мінус-добрів за вмістом канабіноїдних речовин протягом трьох років відбувалося зниження висоти рослин та утворення стерильності.

### References

1. Lalko I.M. O metodakh ocenki sodержaniia kannabinoidov u odnodomnoi konopli. *Sel'skokhoziaistvennaia biologii*. 2002. No. 3. S. 117–119. [in Ukrainian] / Лайко І.М. О методах оценки содержания каннабиноидов у однодомной конопли. *Сельскохозяйственная биология*. 2002. № 3. С. 117–119.
2. Darwin C.R. The variation of animals and plants under domestication. In two volumes. London: John Murray, 1868. Vol. 2. 486 p.
3. Sizov I.A. Chastnaia selekciia kartofelia, ovoshchnykh, plodovo-iagodnykh i tekhnicheskikh kul'tur. *Teoreticheskie osnovy selektsii rastenii*. М., 1937. Т. 3. S. 597–600. [in Ukrainian] / Сизов І.А. Частная селекция картофеля, овощных, плодово-ягодных и технических культур. *Теоретические основы селекции растений*. М., 1937. Т. 3. С. 597–600.
4. Kaplunova R.I. Metody selektsii konopli na Sinel'nikovskoi selektsionno-opytnoi stantsii. *Voprosy selektsii i semenovodstva konopli i kenafa*. К.: Urozhai, 1971. S. 39–49. [in Ukrainian] / Каплунова Р.И. Методы селекции конопли на Синельниковской селекционно-опытной станции. *Вопросы селекции и семеноводства конопли и кенафа*. К.: Урожай, 1971. С. 39–49.
5. Gorshkova L.M. Kanabis: monografiia. Glukhiv: RVV GDP, 2008. 164 s. [in Ukrainian] / Горшкова Л.М. Канабіс: монографія. Глухів: РВВ ГДПУ, 2008. 164 с.
6. Serkov V.A., Klimova L.V. Sozdanie i izuchenie samoopylennykh liniĭ dlia prakticheskoi selektsii nenarkoticheskoi konopli posevnoi. *Niva Povolzh'ia*. 2016. No. 2. S. 52–60. [in Ukrainian] / Серков В.А., Климова Л.В. Создание и изучение самоопыленных линий для практической селекции ненаркотической конопли посевной. *Нива Поволжья*. 2016. № 2. С. 52–60.

POLYAKOVA A.<sup>1</sup>, RAKHMETOV D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> National University of Bioresources,

Ukraine, 03041, Kyiv, Heroyiv oborony str., 15, e-mail: lemma91@gmail.com

<sup>2</sup> M. Hryshko National Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine,

Ukraine, 01014, Kyiv, Timiryazevs'ka str., 1, e-mail: jamal\_r@bigmir.net

#### CHANGE IN THE CONTENT OF CANNABINOID SUBSTANCES IN *CANNABIS SATIVA* L. INZUCHT-GENERATIONS IN THE PLUS AND MINUS SELECTIONS

**Aim.** To determine the change in the structure of the inzucht-offspring in the content of cannabinoid substances in plants of different varieties of hemp under the influence of directed plus and minus selections. **Methods.** Taking into account the lability of natural phenol-cannabinoids, their transformation and isomerization under the influence of various factors, the method of thin-layer chromatography (TLC) was used. Plants of varieties YuSO1 and Hlyana at the budding period were labeled and separated. **Results.** By selecting plants in inzucht offsprings for three years aimed at reducing the content of cannabinoids in the hemp straw YSO 1 and increasing the amount of these substances in the Hlyana variety showed that the increase in the content of cannabinoids was more active than reduction, indicating a dominant feature of cannabinoids. Under the condition of isolation, self-pollination and regardless of the plus and minus selections for the content of cannabinoids, for three generations there was a decrease in plant height and sterility of varieties. **Conclusions.** The results of chromatographic analyzes of inzucht generations by the content of cannabinoid substances under the influence of minus and plus selections indicate their dominant feature. Regardless of the minus and plus selections by the content of cannabinoids, provided that the isolation and self-pollination were carried out, the plant height declined.

**Keywords:** THC, CBD, CBN, CBDA, THCA.