

photodependent transcription of the carotenoid biosynthesis gene cluster // J. Bacteriol. - 2005. - 187, N 5. - P. 1825-1832.

#### **Резюме**

Каротинсинтезуючі мутанти 4Crt і 4Lcp *S.globisporus* 1912 здатні до конститутивного синтезу каротиноїдів. Методом ВЕРХ показано, що мутант 4 Crt синтезує лікопін 47% та бета – каротин 22%. Мутант 4Lcp не синтезує бета – каротину, натомість продукує більшу кількість лікопіну – 80%.

4Crt, 4Lcp mutants biosynthesis carotenoids of *S.globisporus* 1912 should synthesize carotenoids constitutively. HPLC has demonstrated, that mutant 4 Crt synthesizes lycopene 47% and 22%  $\beta$  – carotene. 4Lcp mutant has not synthesized  $\beta$  – carotene, though it has synthesized lycopene the most - 80%.

#### **ГОРШКОВА Л.М.**

*Глухівський державний педагогічний університет імені Олександра Довженка  
Україна, 41400 вул. Києво-Московська, 24 м. Глухів Сумської обл.,  
e-mail: gdpu\_\_bio @ bk. ru*

### **ВЗАЄМОЗАЛЕЖНІСТЬ МІЖ МОРФОЛОГІЧНИМИ ОЗНАКАМИ ЗАЛОЗИСТИХ І НЕЗАЛОЗИСТИХ ВОЛОСКІВ ТА ВМІСТОМ КАННАБІНОЇДНИХ СПОЛУК У CANNABIS SATIVA L.**

Вивчення морфологічних ознак залозистих волосків та місце локалізації каннабіноїдних сполук, які міцно пов'язані із залозами, має науковий і практичний інтерес для селекційної роботи. Відомо, що нові сорти конопель були отримані, в основному, методами гібридизації південних та середньо-руських сортів, що змінило їх природу, так як середньо-руські сорти містили невелику кількість залозистих волосків, а південні навпаки були густо опушені, тому для практичної селекції виявлення цих ознак відіграє значну роль

G. Briozzi та F. Tognini [1] дають перші уявлення про секреторну функцію залоз, що вкривають листки трихом та інші органи конопель. Вивчення залозистих трихом було викликано, перш за все, незаконним використанням конопель, як галюциногену.

M.J.Monan Rana Ravindrahabh [5] встановили, що спочатку будь-яка клітина епідермісу на долях оцвітини конопель може виконувати функцію залозистого волоска. Цитоплазма її стає щільною, клітина видовжується і ділиться, як правило, поперечним і рідше продольним поділом. Нижня клітина ділиться у поперечному напрямку, а кінцева просто збільшується... незалозисті волоски утворюються в результаті подовження епідермальної клітини оцвітини.

На вегетативних та генеративних органах конопель містяться різноманітні типи залозистих і незалозистих епідермальних відростків. Залозисті трихоми на відміну від незалозистих містять терпеноферольні сполуки, що отримали назву каннабіноїдів.

#### **Матеріали і методи**

Для вирішення поставлених питань були використані сорти дводомних та одностомних конопель Глухівські-10 та ЮСО-29. Відібрані сорти контрастно відрізнялись за вмістом каннабіноїдних сполук за морфологічними, біологічними та генетичними ознаками. Напівкількісний метод тонкошарової хроматографії (ТШХ) дозволяв проводити досить повну ідентифікацію каннабіноїдних сполук на пластинах типу Silufol ® uv – 24 [1]

Кількісне визначення каннабіноїдних речовин проводили за допомогою газорідинного хроматографа (ГРХ) марки Hewlett Packard 5830A обладнаного водневим пламенево-іонізуючим детектором. У якості газу-носія використовували азот. Швидкість потоку азоту та водню 30 мм/хв, повітря – 300 мм/хв. Температура впускного отвору та детектору була відповідно 240 та 300°C. Скляні колонки заповнювались 5% OV-101 на

Chromosorb WAN-DMCS (80-100 меш). Інтегратор марки Hewlett Packard 5830A. Внутрішнім стандартом був метиловий ефір стеаринової кислоти –  $C_{19}H_{38}O_2$ . Мікроскопічний опис морфології залозистих волосків проводили на стереоскопічному мікроскопі МБС – 10.

### **Результати та обговорення**

Морфологічну характеристику вегетативних і генеративних органів конопель проводили починаючи з перших пар листків. Як показали мікроскопічні аналізи нижні сторони листків порівняно з верхніми були опушені покривними волосками у значно більшій мірі. По мірі старіння листків спостерігалися зміни форми покривних волосків. На нижніх ярусах листків вони набували зігнутої ротортоподібної форми. На верхніх молодих і активно фотосинтезуючих листках волоски залишалися тонкими по всій довжині з ледь помітним потовщенням до низу. Кількість волосків на одному  $mm^2$  першої та четвертої пари складало 0.5 – 0.7, на десятій та чотирнадцятій парі 2.5 – 3.0 і більше штук. Залозистих волосків не було відмічено.

Аналіз дрібних листків розташованих на суцвітті показав, що окрім епідермальних волосків незалозистого типу були відмічені залозисті волоски у вигляді блискучих голівок шароподібної форми. Відмічалось скупчення речовин аморфного типу – оксалату кальцію, що є характерним для конопель. Найдрібніші листки суцвіття – тонкі листові пластинки були густо вкриті залозистими волосками. Стебла до цвітіння, як і листки, були вкриті криючими трихомами незалозистого типу. У період цвітіння-дозрівання насіння були виявлені залозисті волоски.

Як відмічено нами раніше найбільша кількість каннабіноїдних речовин містилася в оцвітинах, тому вони послужили об'єктом більш детального вивчення. Враховуючи значну тривалість цвітіння жіночих і однодомних конопель ми мали можливість протягом тривалого періоду більш детально спостерігати за ростом і розвитком оцвітини та залозистих волосків.

Масовий аналіз оцвітин та характеристика виявлених залоз дозволив зробити їх класифікацію, дотримуючись системи G. Hammond, P. Machlberg [7]. Враховуючі зовнішні ознаки залозистих волосків, ми спостерігали появу нових груп, які не були описані.

Першими на оцвітині з'являлися волоски без ніжок – сидячі, які відрізнялись між собою за розміром голівок – від дрібних до значно більших. Форма голівок спочатку була «зморшкувата», а потім голівки ставали випуклими, кулястими і в багатьох випадках блискучими. Забарвлення залоз на рослинах варіювало від білого до жовто-прозорого. У середньому розмір голівок складав 0.55 – 0.70 мм – це головчато-прикріплені залозисті волоски.

По мірі росту та розвитку оцвітини спочатку на «жилках» потім на всій поверхні з'являлись залозисті волоски за формою і забарвленням відмінні від вище описаних. Численні перегляди оцвітини показали що це головчато-стебельчасті залози. Вони мали різну форму і колір голівок, а також висоту і форму ніжок (стебелець), що дозволило нам класифікувати їх на три групи: «а», «б» і «в».

Виявлені групи головчато-стебельчастих залоз розташовувались на оцвітинах і дрібних листках суцвіття не одночасно. Як правило, на оцвітинах однієї рослини розташовувались волоски головчато-стебельчастого типу групи «а» і «б», на оцвітинах інших рослин – групи «в». Між ними виявлені головчато-прикріплені волоски.

Головчато-стебельчасті залозисті волоски групи «а» мали довгі ніжки 1.5 – 2.5 мм з маленькими голівками у діаметрі 0.3-0.4 мм світло-жовтого або коричневого кольору.

Головчато-стебельчасті залозисті волоски групи «в» мали значно більші голівки білого кольору, не блискучі. Між цими волосками знаходилися головчато-прикріплені залози також з голівками білого кольору.

Головчато-стебельчасті залозисті волоски групи «б» за формою і кольором займали проміжне положення між волосками груп «а» і «в». Ніжки залоз були більш короткі ніж у волосків групи «а» і в середньому їх висота складала 1.5-1.7 мм. Голівки дещо

більші – 0.4-0.5 мм, які виступали над ніжками і зверху були не випуклі, а ніби то здавлені.

Спільне розташування описаних залоз на оцвітинах однієї рослини не спостерігалось, за винятком на одиничних екземплярах.

Колір і форма залозистих волосків служили діагностичною ознакою, враховуючи яку можна було судити про попередню кількість тетрагідроканнабінолу (ТГК) та інших сполук: «є», «не має», «багато», «мало».

Описані залози, що відрізнялися за морфологічними ознаками, були тісно пов'язані з вмістом каннабіноїдних речовин і особливо з вмістом тетрагідроканнабінолу (ТГК) у сортів Глухівські-10 і ЮСО-29.

Оцвітини, на яких були розташовані головчато-стебельчасті волоски групи «в» в кількості 0.55-0.78 штук на 1 мм<sup>2</sup> (Глухівські-10) не містили каннабідіолу (КБД), тетрагідроканнабінолу (ТГК), каннабінолу (КБН) або мали «сліди» цих речовин. Оцвітини, на яких розташовані головчато-стебельчасті волоски групи «а» (на довгій ніжці з маленькою головкою) у кількості 0.8- 1.03 штук на 1 мм<sup>2</sup> (ЮСО-29) містили велику кількість КБД, ТГК, КБН. Каннабідіолова кислота – КБДН завжди була присутня у тих та інших залозах, але у різній кількості. Тобто вміст каннабіноїдних сполук залежав від кількості залозисто-стебельчастих волосків групи «а».

Кількісне визначення вмісту каннабіноїдних речовин, проведене методом газорідної хроматографії, підтвердило відмічену закономірність (табл. 1).

Таблиця 1

Залежність між морфологічними ознаками залозистих волосків і вмістом каннабіноїдних речовин (оцвітини) ГРХ

Номер сім'ї	Номер рослини	Кількість головчато-стебельчастих волосків на 1 мм <sup>2</sup> , штук		Склад каннабіноїдів (%) (5-ти кратна повторюваність)		
		Група «в»	Група «а»	КБД	ТГК	КБН
ЮСО-29						
348	150	відсутні	відсутні	0,0	0,0	0,0
356	431	-//-	-//-	0,0	0,0	0,0
356	435	-//-	-//-	0,0	0,0	0,0
346	133	-//-	-//-	0,0	0,0	0,0
346	131	-//-	0,88	1,699	1,820	1,296
389	1386	-//-	0,80	0,703	1,716	1,402

На крупних листках стебла були відмічені покривні волоски одного типу – криючі трихоми, залозисті волоски були відсутні. Проте, як показали результати аналізу, каннабіноїдні сполуки містилися у листках починаючи з першої пари. У сорту конопель ЮСО-29 вміст ТГК на 2-й парі складав 0.26%, а на 14-й парі – 0.33%, у Глухівських-10 відповідно – 0.20% і 0.33%. Верхні пари листків містили більшу кількість каннабіноїдних сполук у порівнянні з нижніми, що було пов'язане з активним утворенням цих сполук у період цвітіння і дозрівання. Квітки, пилок і насіння також містили невелику кількість каннабіноїдних речовин - «0-сліди». Як залозисті так і покривні волоски на них були відсутні. Отримані результати дають підставу вважати, що можливо каннабіноїдні сполуки локалізовані у внутрішній видільній системі, можливо, видільних клітинах тканин.

Відомо, що рослинний організм виступає як відкрита саморегулююча та самоконтролююча система. Вона здійснює неперервний обмін речовин та енергії із навколишнім середовищем. Гомеостаз забезпечує підтримку параметрів внутрішнього середовища клітин та організму в заданих межах. Важливим компонентом рослинного організму є виділення речовин в процесі життєдіяльності. Фізіологічні виділення речовин виконують

клітини та тканини, які морфологічно нічим не відрізняються від інших несекреторних клітин. Процеси виділення, які відбуваються в рослинних організмах, Т.С. Саламатова, О.А.Зауралов [6] пропонує розподілити на дві групи - внутрішні виділення та зовнішні, що є підтвердженням результатів наших досліджень.

### Висновки

1. Вивчення зовнішньої структури вегетативних і генеративних органів конопель дозволило виявити і описати морфологічні ознаки залозистих волосків за формою та кольором. 2. Описані типи залоз групи «а» і «б» в основному розташовувались на оцвітинах однієї рослини, «а» і «в» на оцвітинах різних рослин. Відмічена пряма залежність між вмістом каннабіноїдних сполук та морфологічними ознаками залоз. Оцвітини, на яких були розташовані залозисті волоски групи «а» і «б» містили велику кількість КБД, ТГК, КБН і кислот, як то залози групи «в» - відмічена відсутність або не значна кількість ТГК, КБД і кислот. 3. Відсутність залозистих волосків визначала відсутність усіх перерахованих каннабіноїдних сполук.

### Література

1. *Briosi G. and Tognini F.* Intorno alla anatomia della Canapa (*Cannabis sativa L.*) // Parte seconda: Organi vegetativi. - Atti. Ist. Bot. Pavia. Ser. 2. - 1897. - 4. - С. 155-329
2. *Вировец В.Г., Горшкова Л.М., Сенченко Г.И., Сажко М.М.* Методические указания по селекции конопли на снижение содержания каннабиноидов. - М., 1985. - с.14
3. *Горшкова Л.М.* Изучение генетических основ и разработка методов создания нового исходного материала конопли, обладающего минимальным содержанием каннабиноидов. Изучение закономерностей наследования железистых волосков у конопли /Отчет о НИР/закл./ - 1987.- № 0287.0051021
4. *Горшкова Л.М., Сенченко Г.И., Вировец В.Г.* Способ оценки растений конопли по содержанию каннабиноидных соединений /Авт. свид. СССР № 138687. - 15.11.1987
5. *Mohan Ram H.V. and Nath R.* The morphology and Embryology of *Cannabis sativa L.* // *Phytopathology.* - 1964. - 14. - с. 414-429
6. *Саламатова Т.С., Зауралов О.А.* Физиология выделения веществ растениями. – К.: Издательство Ленинградского университета, 1991. – 152 с.
7. *Hammond G.T and Mahlbery P.G.* Morphogenesis of capitate glandular hairs of *Cannabis sativa* (Cannabinaceae) // *Amer. J. Bot.* - 1977 - 64(8). - с.1023-1031

### Резюме

Відмічена пряма залежність між вмістом каннабіноїдних сполук та морфологічними ознаками залоз. Відсутність залозистих волосків визначала відсутність усіх перерахованих каннабіноїдних сполук. Відсутність на квітках, пилку та крупних листках стебла залозистих волосків, але наявність каннабіноїдних сполук давали підставу вважати, що можливо каннабіноїдні сполуки локалізовані у видільних клітинах тканин цих органів.

Отмечена прямая зависимость между содержанием каннабиноидных соединений и морфологическими признаками желез. Отсутствие железистых волосков соответствовало отсутствию всех перечисленных каннабиноидных соединений. Отсутствие на цветках, пыльце и крупных листьях стебля железистых волосков, но наличие каннабиноидных веществ давали основание считать, что возможно каннабиноидные соединения локализованы у выделительных клетках тканей этих органов.

The direct dependence between cannabinoids combination containing and the morphological features of the glands is shown. The absence of the gland hairs on the flowers and on the big leaves and the presence of the cannabinoid combinations prove that those combinations are localized in the secrete cells of the mentioned parts of plants.