

Določanje kemijske sestave terpenov in kanabinoidov ter genetske raznolikosti odbranih fenotipov navadne konoplje

Dr. Marjeta Eržen,
Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije

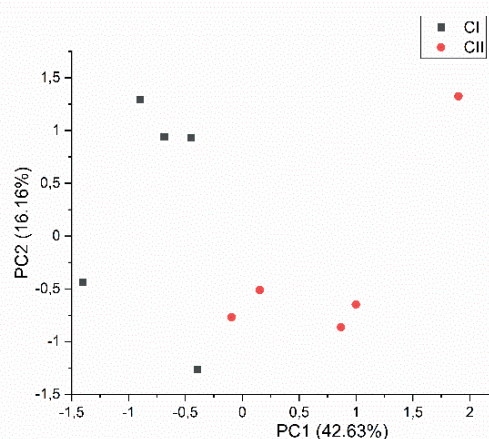
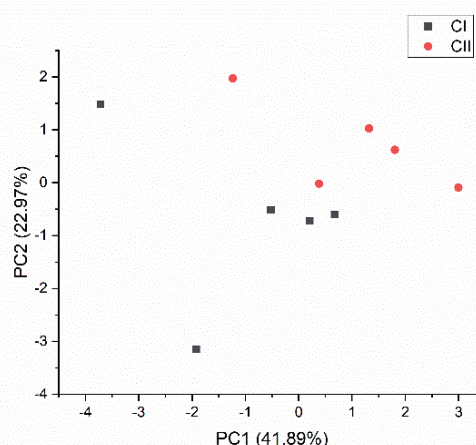
Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je ena najstarejših gojenih rastlin na svetu. Je dvodomna enoletna rastlina z zelo širokim spektrom uporabnosti. In prav zaradi tega se raziskave na področju konoplje izjemno hitro odvijajo. V raziskavi v okviru moje doktorske disertacije smo v prvem sklopu preučevali različne fenotipe znotraj treh sort konoplje (Carmagnola selected, Tiborszallasi in selekcija Finole), pri čemer smo opredelili njihov kemijski profil. Določili smo vsebnost kanabinoidov, komponent eteričnega olja, celokupnih polifenolov in antioksidantov. V drugem sklopu pa smo določili populacijsko strukturo odbranih fenotipov ter izvedli študijo povezave fenotipskega profila z genotipom in za vsako fenotipsko lastnost določili najbolj značilne gene, ki opredeljujejo te lastnosti. Raziskovalno delo je potekalo pod mentorstvom izr. prof. dr. **Andreje Čerenak** na Oddelku za rastline tla in okolje na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. Študij je bil financiran s strani Javne agencije za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS) in je potekal na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani.

Ali obstajajo razlike med fenotipi znotraj sort na podlagi komponent eteričnega olja in kanabinoidov?

V vseh treh preučevanih sortah so bile najbolj zastopane komponente eteričnega olja mircen, β -kariofilen, α -pinen in α -humulen, medtem ko sta bila najbolj zastopana kanabinoida CBD in CBD-A. Na podlagi komponent eteričnega olja so se sorte dobro ločile med sabo. Pri primerjavi posameznih fenotipov znotraj sort (fenotip je skupek lastnosti, ki se izrazijo pri nekem organizmu zaradi vpliva genotipskih in okoljskih dejavnikov) pa smo lahko razlikovali le fenotipa, ki smo ju določili pri sorti Carmagnola selected. Tudi na podlagi vsebnosti kanabinoidov so se razlike znotraj sort pokazale le pri omenjeni sorti. Na podlagi teh parametrov sta sorta Tiborszallasi in selekcija Finole bolj uniformni kot pa sorta Carmagnola selected.

Zanimive rezultate smo dobili tudi pri izračunu celokupnih vsebnosti kanabinoidov ter razmerja med CBD in THC. Glede na razmerje sta dva fenotipa (eden znotraj sorte Carmagnola selected in drugi znotraj sorte Tiborszallasi) imela skoraj enako razmerje med kanabinoidoma CBD in THC in sicer 1 : 2, ostali fenotipi pa so imeli višjo vsebnost CBD kot THC. Zelo ugodno razmerje je sicer imel eden izmed fenotipov

znotraj sorte Carmagnola selected, kjer je bila vsebnost CBD kar 21-krat večja od THC.

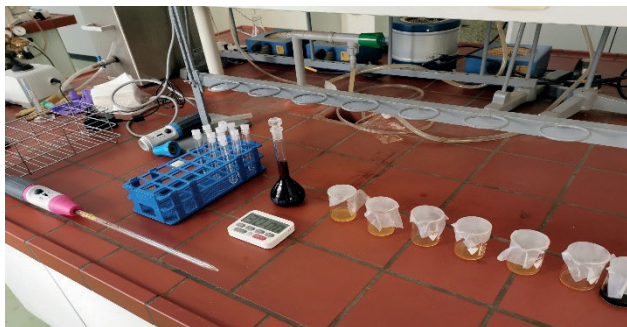


Grafa prikazujeta razlikovanje fenotipov na podlagi komponent eteričnega olja (zgoraj) in vsebnosti kanabinoidov (spodaj) znotraj sorte Carmagnola selected. Črni kvadrati in rdeče pike predstavljajo fenotipa določena znotraj sorte Carmagnola selected. Z grafa je razvidna razlika med fenotipoma tako pri eteričnih oljih kot pri kanabinoidih.

Polifenoli in antioksidativna aktivnost v konoplji

Vemo, da imajo tako polifenoli kot antioksidanti pomemben vpliv na zdravje. Najdemo jih v različnih čajih, tinkturah in drugih izdelkih, zato je še toliko bolj pomembno, kakšno topilo uporabljamo za njihovo ekstrakcijo. V naši raziskavi smo primerjali dve različni ekstrakciji, in sicer z etanolom in z vodo. Ugotovili smo, da je pri polifenolih boljši izkoristek

prikazala etanolna ekstrakcija. Pri razlikovanju med posameznimi fenotipi smo pri antioksidativni aktivnosti lahko pri obeh ekstrahiranjih znotraj sorte ločili le fenotipa selekcije Finola. Pri vsebnosti celokupnih polifenolov pa smo pri etanolnih ekstraktih ločili med sabo vse fenotipe znotraj posameznih sort, medtem ko smo pri vodnih ekstraktih lahko ločili le fenotipa znotraj sorte Tiborszallasi. Raziskava je bila postavljena kot tipalni poskus. Za bolj obširne rezultate bi bile potrebne še nadaljnje analize.

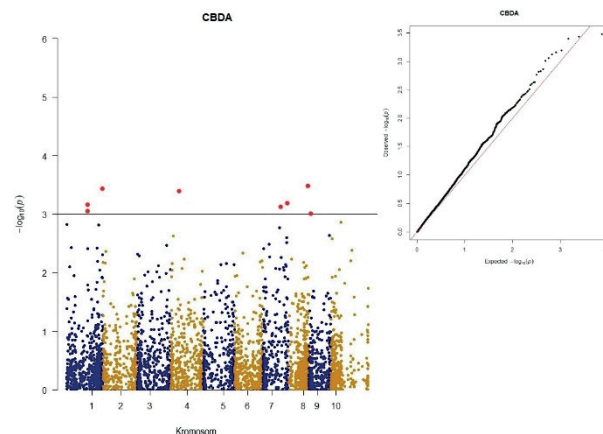


Priprava ekstraktov konoplje za analize vsebnosti celokupnih polifenolov in antioksidativne aktivnosti (Foto: M. Eržen)

Kako sta pri konoplji povezana fenotip in genotip?

S populacijsko analizo genotipskih podatkov različnih fenotipov prej omenjenih sort smo analizirali, ali so razlike med fenotipi, ki so vidne na morfološkem nivoju (vizualno) in na kemijskem nivoju (razlike v rezultatih kemijskih analiz), vidne tudi na genetskem nivoju (na dednem zapisu). Tako smo lahko sorto Tiborszallasi in selekcijo Finole razdelili v dve skupini, sorta Carmagnola selected pa je bila na genetskem nivoju enotna, fenotipi, ki smo jih določili pa so bili po skupinah naključno porazdeljeni. V drugem delu smo združili fenotipske (kanabinoide, komponente eteričnega olja in vizualne lastnosti) in genotipske podatke ter na podlagi le-teh dobili odstopajoče pozicije SNP markerjev za posamezne lastnosti. Na teh pozicijah smo opredelili gene, ki se tam nahajajo, in jih skušali povezati s posameznimi lastnostmi. Za nekatere lastnosti, kot sta THC in CBD-A, smo odkrili transkripcijski faktor WRKY 72, ki ima pri hmelju

učinek na biosintezo lupulina. Za lastnost α -pinen pa smo odkrili taumatinu podoben protein, ki ima lastnost odpornosti na pepelasto plesen in nekatere druge patogene tudi pri hmelju. Ti podatki nam bodo služili pri nadaljnjih analizah povezave genov s fenotipskimi lastnostmi ter povezave med konopljo in hmeljem.



Graf tipa Manhattan za lastnost CBD-A, ki prikazuje odstopajoče SNP pozicije prikazane nad mejo signifikantnosti označene z rdečimi pikami. Te pozicije so različno razporejene po kromosomih. Za vsako pozicijo je bil določen gen, ki se na tisti poziciji nahaja. Gene, ki se na teh pozicijah nahajajo, je mogoče v nadaljevanju povezati z biosintezo potjo kanabinoida CBD-A.



Setev konoplje s poskusno sejnalnico (Foto: S. Zagožen)

Slez zanimiv za pridelavo na različnih območjih Slovenije

Mag. Nataša Ferant in dr. Barbara Čeh,
Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije

Slez ali ajbiš (*Althaea officinalis* L.) je trajni grm, ki zraste od 70-180 cm. Uporabni deli so listi, cvetovi in korenine. Listi so puhasto dlakavi, deljeni v tri ali pet krp z nazobčanim robom. Beli rahlo rožnati cvetovi rastejo v zalistjih in klasih na koncu vej ter pogankov.

Cveti od julija do septembra. Korenine so mesnate in močno razraščene z glavno in stranskimi koreninami. V notranjosti so smetanaste barve.