

Селекція промислових конопель із підвищеним вмістом канабігеролу на прикладі сорту 'Вік 2020'

С. В. Міщенко*, І. М. Лайко, Г. І. Кириченко

Інститут луб'яних культур НААН України, вул. Терещенків, 45, м. Глухів, Сумська обл., 41400, Україна,
*e-mail: serhii-mishchenko@ukr.net

Мета. Створити сорт промислових конопель середньоєвропейського еколого-географічного типу універсального напрямку господарського використання з підвищеним вмістом канабігеролу. **Методи.** Селекційні (самозапилення, створення синтетичних популяцій, добір), польові, біохімічні (тонкошарова та газорідна хроматографія канабіноїдних сполук), інструментально-технологічне оцінювання якості волокна, статистичні. **Результати.** У результаті синтетичної селекції створено сорт 'Вік 2020', рослини якого характеризуються підвищеним вмістом канабігеролу ($1,034 \pm 0,0323\%$), що має низку лікувальних властивостей, і майже повною відсутністю інших вторинних метаболітів – канабідіваріну, канабідіолу, канабіхромену і психотропного тетрагідроканабінолу ($0,003 \pm 0,0011$; $0,018 \pm 0,0080$; $0,012 \pm 0,0027$ і $0,005 \pm 0,0012\%$ відповідно). Ознака вмісту канабігеролу є досить стабільною в межах популяції і не взаємопов'язана з ознакою вмісту тетрагідроканабінолу ($r = -0,23$). Проведення тонкошарової хроматографії показало, що канабігерол накопичувався переважно у формі канабігеролової кислоти і меншою мірою як нейтральна сполука, що цілком узгоджується з теорією, згідно з якою ця речовина є попередником для синтезу інших канабіноїдів. За результатами конкурсного сортовипробування в разі вирощування для отримання волокна й насіння сорт поєднує низькорослість, а саме істотно нижчі порівняно із сортом-стандартом показники загальної (206,4 см) і технічної довжини стебла (135,6 см), з істотно вищими показниками довжини суцвіття (70,8 см), які детермінують формування значної біомаси, придатної для використання на фармацевтичні цілі, та врожайності насіння (0,98 т/га). Вихід загального волокна становив, як і в сорту-стандарту, 29,0%, але воно характеризувалося вищою якістю й технологічною цінністю за первинного перероблення. Сорт мав однорідну статурну структуру, стійкість до біо- та абіотичних чинників середовища. Вегетаційний період до біологічної стиглості (BVCH 89) – 116 діб. Рекомендований для вирощування з метою отримання насіння, якісного волокна й потенційно – канабігеролу (за умови зміни законодавства). **Висновки.** Доведено ефективність залучення до селекційного процесу самозапилених ліній із подальшим їх об'єднанням у синтетичну популяцію і поліпшувальним доббором на прикладі нового сорту промислових конопель 'Вік 2020', що характеризується підвищеним вмістом канабігеролу й відсутністю психотропних властивостей.

Ключові слова: коноплі; культивар; самозапилення; добір; схрещування; канабіноїди; кореляція; продуктивність.

Вступ

Канабіноїди є специфічними речовинами конопель посівних (*Cannabis sativa* L.), які належать до класу ароматичних сполук і накопичуються переважно в залозистих трихомах [1, 2]. Біосинтез канабіноїдів відбувається на поверхні плазматичної мембрани або в клітинній стінці на межі із секреторною порожниною. Ці сполуки виконують у рослині

захисну роль, при цьому зниження вмісту канабіноїдів і кількості залоз у промислових конопель не змінюють цю фізіологічну функцію, оскільки достатнім є їхній синтез у невеликих кількостях іншими клітинами рослинного організму [2].

Найпоширенішими канабіноїдами в залозистих трихомах конопель є тетрагідроканабінолова (ТГКК), канабідіолова (КБДК) та канабігеролова (КБГК) кислоти. Біоактивні форми канабіноїдів – тетрагідроканабінол (ТГК), канабідіол (КБД) і канабігерол (КБГ) – утворюються в результаті реакції декарбоксілування під впливом зовнішніх умов. Інші декарбоксіловані похідні – канабіхромен (КБХ) і канабінол (КБН) – виявлені в невеликих кількостях [3]. Попередники біосинте-

Serhii Mishchenko
<https://orcid.org/0000-0002-1979-4002>

Iryna Laiko
<https://orcid.org/0000-0003-1514-574X>

Hanna Kyrychenko
<https://orcid.org/0000-0003-3609-3141>

зу канабіноїдів утворюються двома різними біосинтетичними шляхами: полікетидним, у результаті чого продукується оліветолова кислота, і пластидним, у результаті чого продукується геранілдіфосфат; з них за участю пренілтрансферази синтезується КБГК, яка є основним попередником як мінімум восьми різних канабіноїдів [4]. Також виявлено та охарактеризовано специфічні синтази, які ферментують певну канабіноїдну сполуку [5]. Зокрема, ТГКК-синтаза перетворює КБГК в ТГКК [6], відповідно КБДК-синтаза – у КБДК [7] і КБХК-синтаза – у КБХК [8].

Аналіз особливостей успадкування хемотипів привів до висновку, що гени для ТГКК- і КБДК-синтази є кодомінантними алелями в одному локусі. Така кодомінантність зумовлена двома алелями для різних ізоформ однієї і тієї ж синтази, що має різну специфічність для перетворення КБГК-попередника в КБДК чи ТГКК відповідно [9], водночас ген для КБХК-синтази знаходиться в незалежному локусі. В інших дослідженнях [10] спостерігали різноманітність послідовностей для ТГКК- і КБДК-синтази, що може бути обумовлено наявністю декількох зчеплених локусів для цих генів.

Серед основних канабіноїдних сполук особливості генетичного контролювання ознаки вмісту КБГК вивчено найменше. Генетичний аналіз потомства двох варіантів гібридів, створених у результаті схрещування сорту з переважанням КБГК із сортом з переважанням ТГКК, а також сорту з переважанням КБГК із сортом з переважанням КБДК, показав, що ознака високого вмісту КБГК успадковується внаслідок дії єдиного рецесивного гена, потенційно детермінованого нефункціонуючим алельним варіантом гена ТГКК-синтази. Так звана «нульова» ТГКК-синтаза містить однонуклеотидний поліморфізм (*SNP*), який робить синтазу нездатною перетворювати КБГК в ТГКК, що й призводить до значного накопичення першої сполуки. *SNP* може бути використаний як молекулярний маркер у селекції на підвищення вмісту КБГК [11].

Особливості накопичення канабіноїдних сполук у конопель добре вивчені. Зокрема, їхній вміст збільшується на генеративній стадії розвитку, концентрація цих речовин зменшується від верхівки до нижньої частини рослини, а хемотип зразка (сорту) є відносно сталим протягом індивідуального розвитку. Накопичення КБГК в онтогенезі, на відміну від КБДК і ТГКК, має свої особливості, оскільки КБГК є попередником для синтезу КБДК, ТГКК і КБХК. Значне збільшення вмісту КБДК і ТГКК протягом 5–6 тижнів після початку цвітіння може призвес-

ти до зменшення КБГК і, відповідно, нейтрального КБГ із загальної суми канабіноїдів КБГ + КБГК. Після досягнення піку на 7-му тижні цвітіння загальна сума КБГ + КБГК істотно знижувалась – на 43,5; 37,9 і 65,3% протягом двох тижнів, а вміст нейтрального КБГ залишався відносно постійним до старіння рослин [12].

Інтерес до конопель посівних як культури медичного напрямку використання постійно підвищується. Найчастіше з лікувальною метою використовують КБД [13], але останнім часом активно проводяться клінічні дослідження можливостей використання й КБГ, який має значний потенціал [14] і найближчим часом з високою ймовірністю може скласти конкуренцію КБД. КБГ виявляє чітко виражені лікувальні властивості, зокрема в дослідях на тваринах та в культурі ізольованих клітин і тканин різних органів *in vitro* демонстрував ефективність у боротьбі з онкологічними захворюваннями [15]. КБГ разом з ТГК знижували життєздатність ракових клітин, але поєднання КБГ і КБД, тобто двох неспсихотропних сполук, було ефективнішим [16]. КБГ характеризується антиоксидантною дією і може бути використаний не лише як нейропротектор [17, 18], а й при лікуванні неврологічних розладів [19]. Ця сполука також має помірну знеболювальну, протигрибну й антибактеріальну дію [15, 20].

Методи створення сортів промислових конопель із лікувальними властивостями залишаються недостатньо розробленими, застосовується сімейно-груповий добір як для підвищення вмісту КБГ, так і для паралельного поліпшення цінних господарських ознак [21]. Зазначений метод є досить ефективним у селекції конопель, але потребує тривалого часу для стабілізації ознак, тому актуальності набуває прискорення процесу створення вихідного матеріалу, розроблення методології селекції в цьому напрямі та практичне створення сортів. Сорти лікарських конопель, на наш погляд, повинні мати високий вміст КБД, КБГ чи інших неспсихотропних канабіноїдів, і одночасно не містити ТГК (чи містити в кількостях, які не виявляють психотропних властивостей).

Мета досліджень – створити сорт промислових конопель середньоєвропейського еколого-географічного типу універсального напрямку господарського використання з підвищеним вмістом КБГ.

Матеріали та методика досліджень

Матеріалом для досліджень слугували окремі самозапилені лінії сорту ‘Глухівські 58’,

які характеризувалися вмістом КБГ понад 0,5%. Потім було проведено їхній поліпшувальний добір за цією ознакою до шостого покоління. Для стабілізації ознаки однорідні інбредні лінії використано для створення вихідного селекційного матеріалу шляхом синтетичної селекції за розробленими схемою і методикою [22].

Створення синтетичної популяції включало декілька етапів:

1) самозапилення й добір ліній (за результатами вивчення в розсаднику оцінки) з найменшим ступенем депресії, бажаним виявом селекційних ознак, відсутністю шкідливих мутацій і ТГК, стабільною ознакою однодомності (I_1-I_2);

2) самозапилення й добір ліній (за результатами вивчення в розсаднику оцінки), які в результаті близькоспорідненого розмноження утворюють малу, а за відсутності просторової ізоляції і вільного запилення – велику кількість насіння (I_3-I_4); додаткове самозапилення, якщо є потреба в досягненні інбредного мінімуму, підвищенні ступеня однорідності та стабільності ліній (I_5-I_6);

3) схрещування під груповим ізолятором подібних за ознаками 5–7 самозаплених ліній (syn-1) і вивчення потомства в розсаднику оцінки, добір однакової кількості насіння з 3–5-ти ліпших за комбінаційною здатністю самозаплених ліній, сімба суміші насіння, вільне перезапилення під груповим ізолятором (syn-2) і розмноження потомства (syn-3) [22].

У результаті було створено зразок 'VIK CBN' (номер Національного каталогу колекції генетичних ресурсів рослин UF0600718), який поліпшено методом сімейно-групового добору за ознаками продуктивності й зареєстровано під назвою 'Вік 2020'.

Польові дослідження проводили на експериментальній базі Інституту луб'яних культур НААН України (м. Глухів Сумської обл.), що розташований у північно-східній частині України на південній межі зони мішаних лісів у межах найбільш низинної ділянки Українського Полісся. Ґрунти – темно- й світло-сірі лісові, слабкоопідзолені суглинки, утворені на моренній глині. Погодні умови впродовж років досліджень були різноманітними й характеризувалися відхиленнями від середньобогаторічних показників температури повітря, кількості опадів і відносної вологості повітря (2018 і 2020 рр. були спекотними та посушливими протягом вегетації конопель, а 2019 р. характеризувався надмірними опадами у травні–липні). Це дало змогу всебічно оцінити господарські показники нового сорту за методикою [23].

Для ідентифікації канабіноїдних сполук під час обмолоту рослин конопель, вирощених у польових умовах у розсаднику оцінки (фаза ВВСН 89) [24], з кожної ділянки (площею 1 м²) відбирали об'єднаний зразок рослинного матеріалу, достатній для проведення аналізу, який висушували і зберігали за температури лабораторії. Перед проведенням аналізу зразки висушували до постійної маси за температури 105 °С у сушильній шафі, подрібнювали до порошкоподібного стану та ретельно перемішували, відбирали проби у двох повтореннях масою 0,5 г та додавали 5 мл метанолу (співвідношення «рослинний зразок : екстрагент» – 1 : 10). Тривалість екстракції становила 24 год, після чого екстракт фільтрували з використанням паперового фільтра. В отриманих у результаті пробопідготовки метанольних екстрактах рослинних зразків конопель визначали кількісний уміст канабіноїдних сполук методом газорідинної хроматографії на хроматографі з детектуванням.

Умови хроматографування:

- прилад – HP 6890 Series GC System, serial No US00008158;
- капілярна колонка – Agilent Technologies 19091J-413 (HP-5), довжина – 30 м, діаметр – 0,320 мм, фаза – 0,25 мкм, SN: USN493366H, постійний потік – 1,5 мл/хв, газ-носії – гелій;
- інжектор – автоінжектор 7683, Split 20 : 1, температура випарника – $T = 250$ °С; піч – $T_{\text{поч}} = 100$ °С, тримати 2 хв, нагрівання – 15 °С/хв, $T_{\text{кін}} = 280$ °С, тримати 11 хв;
- детектор – полум'яно-іонізаційний;
- проба – 1,0 мкл.

Сполуки ідентифікували за часом утримання. Концентрацію канабіноїдів визначали методом внутрішнього стандарту, яким слугував метиловий ефір стеаринової кислоти (концентрація – 0,392% проби), на основі оброблення програмою даних Chemstation співвідношення площі хроматографічних піків внутрішнього стандарту і сполук, що ідентифікуються.

Умови проведення тонкошарової хроматографії:

- екстрагент – етанол;
- система розчинників – «петролійний ефір (60–95 °С) – диетиловий ефір» (40 : 10);
- фарбування барвником тривким синім ББ;
- еталон-свідок – сорт конопель 'ЮС 9'.

Статистичну обробку даних здійснювали згідно з методикою польового дослідження [25].

Результати досліджень

Рослини створеного сорту промислових конопель 'Вік 2020' характеризуються підвищеним вмістом КБГ – $1,034 \pm 0,0323\%$, який

належить до непсихотропних компонентів канабіноїдних сполук, і майже повною відсутністю інших вторинних метаболітів – канбідіварину (КБДВ), КБД, КБХ і психотропного ТГК ($0,003 \pm 0,0011$; $0,018 \pm 0,0080$; $0,012 \pm 0,0027$ і $0,005 \pm 0,0012\%$ відповідно). При цьому ознака вмісту КБГ є досить стабільною, її мінімальне значення в межах популяції становить 0,8538, а максимальне – 1,2242%, коефіцієнт варіації – 12,1%, що вказує на середню мінливість, яка близька до низької. У великій кількості рослин досліджуваного сорту КБДВ, КБД, КБХ і ТГК взагалі відсутні, їх не можна ідентифікувати в межах чутливості газорідного хроматографа й використаних методів дослідження. Максимальний уміст ТГК виявлено на рівні 0,0124% (табл. 1). Таким чином, розроблена схема селекції синтетичних популяцій однодомних конопель є ефективною для створення сортів з лікувальними властивостями.

Таблиця 1

Уміст канабіноїдних сполук в елітних рослинах сорту 'Вік 2020' порівняно зі стандартом 'Гляна' (середнє за 2019 і 2020 рр.)

Сполука	Уміст, %		
	'Гляна'	'Вік 2020'	
	середній	середній	мінімальний–максимальний
КБДВ	$0,001 \pm 0,0010$	$0,003 \pm 0,0011$	0,0000–0,0138
КБД	$0,021 \pm 0,0085$	$0,018 \pm 0,0080$	0,0000–0,0658
КБХ	$0,007 \pm 0,0016$	$0,012 \pm 0,0027$	0,0000–0,0523
ТГК	$0,003 \pm 0,0012$	$0,005 \pm 0,0012$	0,0000–0,0124
КБГ	$0,002 \pm 0,0010$	$1,034 \pm 0,0323^*$	0,8538–1,2242

* істотна різниця на рівні значущості 0,05.

Як свідчать результати тонкошарової хроматографії канабіноїдних сполук, КБГ накопичувався переважно в кислотній формі – КБГК, і меншою мірою як нейтральна сполука, що цілком узгоджується з теорією, згідно з якою ця речовина є попередником для синтезу КБДК, ТГКК і КБХК. R_f КБГ у середньому становив 0,68 (рис. 1). У результаті декарбоксілування кислотних форм канабіноїдів у нейтральні сполуки під час згорання в процесі газорідної хроматографії, ідентифіковано КБГ.

Крім того, між ознаками вмісту КБГ і КБДВ, КБГ і КБХ, КБГ і ТГК встановлено істотний слабкий негативний взаємозв'язок. Коефіцієнти парної кореляції становлять -0,17; -0,11 і -0,23 відповідно. Позитивним для селекційної науки й виробництва є фактична відсутність взаємозв'язку непсихотропного КБГ і психотропного ТГК. З одного боку, виникають передумови для подальшого підвищення вмісту КБГ без стрімкого зростання вміс-

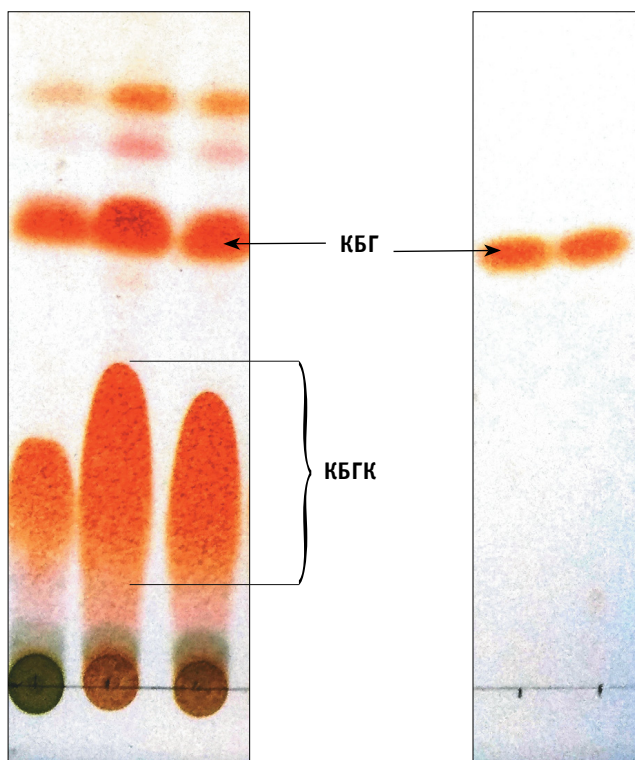


Рис. 1. Вияв КБГ і КБГК на хроматографічних пластинах

ту ТГК, а з іншого – є можливість розмноження сорту в системі насінництва в низці послідовних генерацій без перевищення дозволеного чинним законодавством рівня ТГК (0,08%). Припускаємо, що створений сорт промислових конопель медичного напрямку використання є з перерваним процесом біосинтезу канабіноїдних сполук, за якого інактивовані відповідні синтази, що перетворюють КБГК у КБДК чи ТГКК, і тому накопичується переважно КБГ. Наявність істотного сильного позитивного кореляційного зв'язку ознаки вмісту КБГ і КБД ($r = 0,84$) у цього сорту вказує лише на наявність як алеля B_D з низьким ступенем активності, оскільки вміст КБД дуже мізерний, так і алеля B_0 (табл. 2).

Таблиця 2

Коефіцієнти парної кореляції між ознаками вмісту канабіноїдних сполук в елітних рослинах сорту 'Вік 2020'

	КБД	КБХ	ТГК	КБГ
КБДВ	-0,01	-0,16*	0,04	-0,17*
КБД	–	-0,26*	-0,16*	0,84*
КБХ	–	–	0,00	-0,11*
ТГК	–	–	–	-0,23*

* істотно на рівні значущості 0,05.

Кумулятивні графіки розподілу частот значень ознаки вмісту канабіноїдів показу-

ють, що лева частка рослин (40,0%) характеризується відсутністю ТГК та їх мізерними кількостями, які не перевищували 0,0012%. Здебільшого рівень вираження ознаки вмісту ТГК знаходився в межах класів 0,0000–0,0049 та 0,0087–0,0124%, а вмісту КБГ – у межах 0,8538–1,0390 та 1,1131–1,2242% (рис. 2 і 3). Установлено негативний коефіцієнт ексцесу для обох досліджуваних ознак, що загалом є позитивним для селекції і первинного насінництва, оскільки є передумови для проведення доборів елітних (родоначальних) рослин з вищим умістом КБГ й відсутністю ТГК.

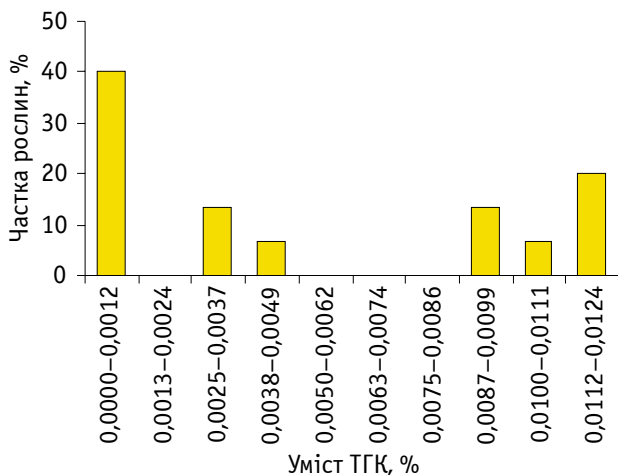


Рис. 2. Кумулятивний графік розподілу частот значень ознаки вмісту ТГК в елітних рослинах сорту 'Вік 2020' (середнє за 2019 і 2020 рр.)

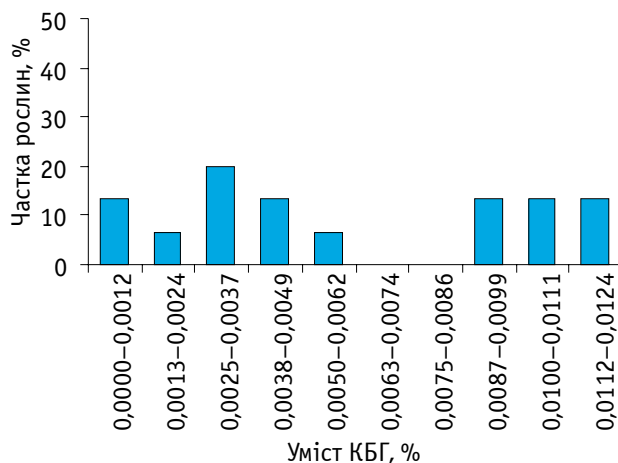


Рис. 3. Кумулятивний графік розподілу частот значень ознаки вмісту КБГ в елітних рослинах сорту 'Вік 2020' (середнє за 2019 і 2020 рр.)

Сорт 'Вік 2020' належить до середньоєвропейського еколого-географічного типу. Вегетаційний період до біологічної стиглості (ВВСН 89) за середніми даними трирічних досліджень становив 116 діб. Рекомендують-

ся для вирощування з метою отримання насіння, порівняно якісного волокна і, потенційно, – з метою отримання листя й суцвіть як сировини для фармацевтичної галузі, але виключно в разі зміни законодавства України щодо використання конопель для виготовлення лікарських препаратів і застосування їх у лікарській практиці. За результатами конкурсного сорто випробування за вирощування для отримання волокна й насіння (на двобічне використання) сорт поєднує низькорослість, а саме істотно менші за сорт-стандарт показники загальної (206,4 см) і технічної довжини стебла (135,6 см), з істотно вищими показниками довжини суцвіття (70,8 см), які детермінують формування значної біомаси, придатної для використання на фармацевтичні цілі, та врожайності насіння (0,98 т/га). Вихід загального волокна становить, як і в сорту 'Гляна', 29,0%, але воно характеризується вищими показниками якості й технологічної цінності за перероблення: лінійна щільність – 45,5 текс, розривне навантаження – 32,0 даН, номер волокна – 5,0, сорт волокна – відбірне (табл. 3).

Таблиця 3

Цінні господарські ознаки сорту 'Вік 2020', порівняно зі стандартом 'Гляна' (середнє за 2017–2019 рр.)

Ознаки	Рівень прояву ознак у сортах	
	'Гляна'	'Вік 2020'
Урожайність та її елементи:		
- стебел, т/га	6,59	5,37
- насіння, т/га	0,72	0,98*
Вегетаційний період, діб	113	116
Загальна довжина стебла, см	233,1	206,4*
Технічна довжина стебла, см	168,8	135,6*
Довжина суцвіття, см	64,3	70,8*
Якість волокна:		
- вихід волокна, %	29,0	29,0
- лінійна щільність, текс	64,8	45,5*
- розривне навантаження, даН	23,6	32,0*
- номер волокна	4,1	5,0
- сорт волокна	не сортове	відбірне
Стійкість проти біотичних чинників:		
- конопляна блішка, бал	5	5
- стебловий метелик, бал	7	7
- фузаріоз, бал	7	7
- дендрофомоз, бал	5	5
Стійкість до абіотичних чинників:		
- осипання насіння, бал	5	7
- вилягання, бал	7	7
Статеві структура популяції:		
- уміст однодомної фемінізованої матіркі, %	77,2	77,5
- уміст плосконі однодомних конопель, %	0	0

* істотна різниця на рівні значущості 0,05.

У статевій структурі популяції сорту 'Вік 2020' переважає однодомна фемінізована ма-

тірка (приблизно 77,5% від загальної кількості статевих типів), яка має компактне суцвіття (переважно ромбоподібне) і понад 75% жіночих квіток у ньому. Цей статевий тип є найбільш продуктивним і стабільним за ознакою однодомності. Плоскінь однодомних конопель (чоловічі рослини), яка є дестабілізатором ознаки однодомності, відсутня. Стійкість проти пошкодження шкідниками й ураження збудниками хвороб на рівні сорту-стандарту – від середньої до високої. Сорт є стійким до осипання насіння. Характеризується вмістом ТГК в межах дозволеної чинним законодавством норми [згідно з висновком № 19/11/2-13-ЕД/20 від 11.11.2020 Державного науково-дослідного експертно-криміналістичного центру Міністерства внутрішніх справ України (м. Київ) у межах чутливості газорідного хроматографа і застосовуваних методів дослідження].

Уключений із 2021 р. до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні [26], сорт промислових конопель ‘Вік 2020’ є конкурентоздатним, про що свідчать результати порівняльного конкурсного сортопробування й характеристика низки однодомних неспсихотропних конопель, створених в Інституті луб’яних культур НААН України [21, 22, 27, 28]. Цей сорт також доцільно вирощувати з метою одержання неспсихотропної сполуки – КБГ, але застосування листків, суцвіть чи відповідних препаратів у медичній практиці поки що не врегульовані й заборонені чинним законодавством України, тому можливості сорту ‘Вік 2020’ – потенційні. Є сподівання, що в майбутньому за зміни законодавства він займе свою нішу на конопляному й фармацевтичному ринках України, а розвиток нового селекційного напрямку триватиме.

Висновки

Доведено ефективність залучення до селекційного процесу самозапилених ліній із подальшим їх об’єднанням у синтетичну популяцію і поліпшувальним добором на прикладі нового сорту промислових конопель ‘Вік 2020’ з підвищеним умістом КБГ й відсутністю психотропних властивостей.

Використана література

- Rodziewicz P., Loroach S., Marczak Ł. et al. Cannabinoid synthases and osmoprotective metabolites accumulate in the exudates of *Cannabis sativa* L. glandular trichomes. *Plant Sci.* 2019. Vol. 284. P. 108–116. doi: 10.1016/j.plantsci.2019.04.008
- Mahlberg P. G., Kim E. S. Accumulation of cannabinoids in glandular trichomes of *Cannabis* (Cannabaceae). *J. Ind. Hemp.* 2004. Vol. 9, Iss. 1. P. 15–36. doi: 10.1300/J237v09n01_04
- Happyana N., Agnolet S., Muntendam R. et al. Analysis of can-

- nabinoids in laser-microdissected trichomes of medicinal *Cannabis sativa* using LCMS and cryogenic NMR. *Phytochemistry.* 2013. Vol. 87. P. 51–59. doi: 10.1016/j.phytochem.2012.11.001
- Zirpel B., Kayser O., Stehle F. Elucidation of structure-function relationship of THCA and CBDA synthase from *Cannabis sativa* L. *J. Biotechnol.* 2018. Vol. 284. P. 17–26. doi: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.031
- Taura F., Tanaya R., Sirikantaramas S. Recent advances in cannabinoid biochemistry and biotechnology. *ScienceAsia.* 2019. Vol. 45, Iss. 5. P. 399–407. doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2019.45.399
- Sirikantaramas S., Taura F., Tanaka Y. et al. Tetrahydrocannabinolic acid synthase, the enzyme controlling marijuana psychoactivity, is secreted into the storage cavity of the glandular trichomes. *Plant Cell Physiol.* 2005. Vol. 46, Iss. 9. P. 1578–1582. doi: 10.1093/pcp/pci166
- Taura F., Sirikantaramas S., Shoyama Y. et al. Cannabidiolic acid synthase, the chemotype-determining enzyme in the fiber-type *Cannabis sativa*. *FEBS Letters.* 2007. Vol. 581, Iss. 16. P. 2929–2934. doi: 10.1016/j.febslet.2007.05.043
- Morimoto S., Komatsu K., Taura F., Shoyama Y. Purification and characterization of cannabichromenic acid synthase from *Cannabis sativa*. *Phytochemistry.* 1998. Vol. 49, Iss. 6. P. 1525–1529. doi: 10.1016/S0031-9422(98)00278-7
- Meijer E. P. de, Bagatta M., Carboni A. et al. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. *Genetics.* 2003. Vol. 163, Iss. 1. P. 335–346. doi: 10.1093/genetics/163.1.335
- Weiblen G. D., Wenger J. P., Craft K. J. et al. Gene duplication and divergence affecting drug content in *Cannabis sativa*. *New Phytol.* 2015. Vol. 208, Iss. 4. P. 1241–1250. doi: 10.1111/nph.13562
- Garfinkel A. R., Otten M., Crawford S. SNP in potentially defunct tetrahydrocannabinolic acid synthase is a marker for cannabigerolic acid dominance in *Cannabis sativa* L. *Genes.* 2021. Vol. 12. 228. doi: 10.3390/genes12020228
- Yang R., Berthold E. C., McCurdy C. R. et al. Development of cannabinoids in flowers of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): a pilot study. *J. Agric. Food Chem.* 2020. Vol. 68, Iss. 22. P. 6058–6064. doi: 10.1021/acs.jafc.0c01211
- Rong C., Lee Y., Carmona N. E. et al. Cannabidiol in medical marijuana: research vistas and potential opportunities. *Pharmacol. Res.* 2017. Vol. 121. P. 213–218. doi: 10.1016/j.phrs.2017.05.005
- Deiana S. Potential medical uses of cannabigerol: a brief overview. *Handbook of Cannabis and Related Pathologies: Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment / V. R. Preedy (Ed.).* Cambridge, MA : Academic Press, 2017. P. 958–967. doi: 10.1016/B978-0-128007563.00115-0
- Zagožen M., Čerenak A., Kreft S. Cannabigerol and cannabichromene in *Cannabis sativa* L. *Acta Pharm.* 2021. Vol. 71, Iss. 3. P. 355–364. doi: 10.2478/acph-2021-0021
- Lah T. T., Novak M., Pena Almidon M. A. et al. Cannabigerol is a potential therapeutic agent in a novel combined therapy for glioblastoma. *Cells.* 2021. Vol. 10, Iss. 2. 340. doi: 10.3390/cells10020340
- Giacomo V., Chiavaroli A., Orlando G. et al. Neuroprotective and neuromodulatory effects induced by cannabidiol and cannabigerol in rat Hypo-E22 cells and isolated hypothalamus. *Antioxidants.* 2020. Vol. 9, Iss. 1. 71. doi: 10.3390/antiox9010071
- Giacomo V., Chiavaroli A., Recinella L. et al. Antioxidant and neuroprotective effects induced by cannabidiol and cannabigerol in rat CTX-TNA2 astrocytes and isolated cortexes. *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21, Iss. 10. 3575. doi: 10.3390/ijms21103575
- Nachnani R., Raup-Konsavage W. M., Vrana K. E. The pharmacological case for cannabigerol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2021. Vol. 376, Iss. 2. P. 204–221. doi: 10.1124/jpet.120.000340
- Aqawi M., Sionov R. V., Gallily R. et al. Anti-bacterial properties of cannabigerol toward *Streptococcus mutans*. *Front. Microbiol.* 2021. Vol. 12. 656471. doi: 10.3389/fmicb.2021.656471

21. Пилипченко А. В., Орлов М. М., Шкурдода С. В. та ін. Результати селекції технічних конопель щодо збільшення вмісту канабігеролу. *Вісник ХНАУ. Сер. : Рослинництво, селекція і насінництво, плодовоовочівництво і зберігання*. 2018. Вип. 1. С. 126–134.
22. Міщенко С. В. Теоретичні і практичні основи використання інбридингу і гібридизації в селекції конопель : автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук : спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво» / Ін-т рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН. Харків, 2020. 52 с.
23. Методика проведення експертизи сортів рослин групи технічних та кормових на придатність до поширення в Україні / за ред. С. О. Ткачик. Вінниця : ФОРМ Корзун Д. Ю., 2017. 74 с.
24. Mishchenko S., Mokher J., Laiko I. et al. Phenological growth stages of hemp (*Cannabis sativa* L.): codification and description according to the BBCH scale. *Žemės ūkio mokslai*. 2017. Vol. 24, Iss. 2. P. 31–36. doi: 10.6001/zemesukiomokslai.v24i2.3496
25. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., доп. и перераб. Москва : Агропромиздат, 1985. 351 с.
26. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2021 рік (станом на 20.04.2021). URL: <https://sops.gov.ua/reestr-sortiv-roslin>
27. Кириченко Г. І., Лайко І. М., Вировець В. Г., Міщенко С. В. Результати конкурсного сортовипробування нових сортів конопель. *Луб'яні та технічні культури*. 2018. Вип. 6. С. 14–20. doi: 10.48096/btc.2018.6(11).14-20
28. Міщенко С. В., Кириченко Г. І., Лайко І. М. Новий сорт промислових конопель 'Артеміда' універсального напрямку господарського використання з підвищеним вмістом олії та поліпшеною якістю волокна. *Plant Var. Stud. Prot.* 2021. Т. 17, № 1. С. 43–50. doi: 10.21498/2518-1017.17.1.2021.228208
10. Weiblen, G. D., Wenger, J. P., Craft, K. J., ElSohly, M. A., Mehedmedic, Z., Treiber, E. L., & Marks, M. D. (2015). Gene duplication and divergence affecting drug content in *Cannabis sativa*. *New Phytol.*, 208(4), 1241–1250. doi: 10.1111/nph.13562
11. Garfinkel, A. R., Otten, M., & Crawford, S. (2021). SNP in potentially defunct tetrahydrocannabinolic acid synthase is a marker for cannabigerolic acid dominance in *Cannabis sativa* L. *Genes*, 12, 228. doi: 10.3390/genes12020228
12. Yang, R., Berthold, E. C., McCurdy, C. R., da Silva Benevenuto, S., Brym, Z. T., & Freeman, J. H. (2020). Development of cannabinoids in flowers of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): a pilot study. *J. Agric. Food Chem.*, 68(22), 6058–6064. doi: 10.1021/acs.jafc.0c01211
13. Rong, C., Lee, Y., Carmona, N. E., Cha, D. S., Ragguett, R.-M., Rosenblatt, J. D., ... McIntyre, R. S. (2017). Cannabidiol in medical marijuana: research vistas and potential opportunities. *Pharmacol. Res.*, 121, 213–218. doi: 10.1016/j.phrs.2017.05.005
14. Deiana, S. (2017). Potential medical uses of cannabigerol: a brief overview. In V. R. Preedy (Ed.), *Handbook of Cannabis and Related Pathologies: Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment* (pp. 958–967). Cambridge, MA: Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-128007563.00115-0
15. Zagožen, M., Čerenak, A., & Kreft, S. (2021). Cannabigerol and cannabichromene in *Cannabis sativa* L. *Acta Pharm.*, 71(3), 355–364. doi: 10.2478/acph-2021-0021
16. Lah, T. T., Novak, M., Pena Almidon, M. A., Marinelli, O., Žvar Baškovič, B., Majc, B., ... Nabissi, M. (2021). Cannabigerol is a potential therapeutic agent in a novel combined therapy for glioblastoma. *Cells*, 10(2), 340. doi: 10.3390/cells10020340
17. Giacomo, V., Chiavaroli, A., Orlando, G., Cataldi, A., Rapino, M., Valerio, V., ... Ferrante, C. (2020). Neuroprotective and neuro-modulatory effects induced by cannabidiol and cannabigerol in rat Hypo-E22 cells and isolated hypothalamus. *Antioxidants*, 9(1), 71. doi: 10.3390/antiox9010071
18. Giacomo, V., Chiavaroli, A., Recinella, L., Orlando, G., Cataldi, A., Rapino, M., ... Ferrante, C. (2020). Antioxidant and neuroprotective effects induced by cannabidiol and cannabigerol in rat CTX-TNA2 astrocytes and isolated cortexes. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(10), 3575. doi: 10.3390/ijms21103575
19. Nachnani, R., Raup-Konsavage, W. M., & Vrana, K. E. (2021). The pharmacological case for cannabigerol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 376(2), 204–221. doi: 10.1124/jpet.120.000340
20. Aqawi, M., Sionov, R. V., Gallily, R., Friedman, M., & Steinberg, D. (2021). Anti-bacterial properties of cannabigerol toward *Streptococcus* mutans. *Front. Microbiol.*, 12, 656471. doi: 10.3389/fmicb.2021.656471
21. Pylypchenko, A. V., Orlov, M. M., Shkurdo, S. V., Pasichnyk, V. V., & Korol, K. P. (2018). Results of technical hemp breeding to increase the content of cannabigerol. *Visnik HNAU. Seriâ Roslinnictvo, selekciâ i nasinnictvo, plodoovočivnictvo i zberigannâ* [The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Crop production, breeding and seed production, horticulture], 1, 126–134. [in Ukrainian]
22. Mishchenko, S. V. (2020). *Teoretychni i praktychni osnovy vykorystannia inbrydynhu i hibrzydizatsii v selektsii konopel* [Theoretical and practical basics of using inbreeding and hybridization in hemp breeding] (Extended Abstract of Dr. Agric. Sci. Diss.). Plant Production Institute nd. a. V. Ya. Yuriiev of NAAS, Kharkiv, Ukraine. [in Ukrainian]
23. Tkachyk, S. O. (Ed.). (2017). *Metodyka provedennia ekspertyzy sortiv roslyn hrupy tekhnichnykh ta kormovykh na prydatnist do poshyrennia v Ukraini* [Methods of examination of plant varieties group of technical and feed on suitability for dissemination in Ukraine]. Vinnytsia: FOP Korzun D. Yu. [in Ukrainian]
24. Mishchenko, S., Mokher, J., Laiko, I., Burbulis, N., Kyrychenko, H., & Dudukova, S. (2017). Phenological growth stages of hemp (*Cannabis sativa* L.): codification and description according to the BBCH scale. *Žemės ūkio mokslai*, 24(2), 31–36. doi: 10.6001/zemesukiomokslai.v24i2.3496

References

1. Rodziewicz, P., Lorocho, S., Marczak, Ł., Kayser, O., & Sickmann, A. (2019). Cannabinoid synthases and osmoprotective metabolites accumulate in the exudates of *Cannabis sativa* L. glandular trichomes. *Plant Sci.*, 284, 108–116. doi: 10.1016/j.plantsci.2019.04.008
2. Mahlberg, P. G., & Kim, E. S. (2004). Accumulation of cannabinoids in glandular trichomes of *Cannabis* (Cannabaceae). *J. Ind. Hemp*, 9(1), 15–36. doi: 10.1300/J237v09n01_04
3. Happyana, N., Agnolet, S., Muntendam, R., van Dam, A., Schneider, B., & Kayser, O. (2013). Analysis of cannabinoids in laser-microdissected trichomes of medicinal *Cannabis sativa* using LCMS and cryogenic NMR. *Phytochemistry*, 87, 51–59. doi: 10.1016/j.phytochem.2012.11.001
4. Zirpel, B., Kayser, O., & Stehle, F. (2018). Elucidation of structure-function relationship of THCA and CBDA synthase from *Cannabis sativa* L. *J. Biotechnol.*, 284, 17–26. doi: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.031
5. Taura, F., Tanaya, R., & Sirikantaramas, S. (2019). Recent advances in cannabinoid biochemistry and biotechnology. *ScienceAsia*, 45(5), 399–407. doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2019.45.399
6. Sirikantaramas, S., Taura, F., Tanaka, Y., Ishikawa, Y., Morimoto, S., & Shoyama, Y. (2005). Tetrahydrocannabinolic acid synthase, the enzyme controlling marijuana psychoactivity, is secreted into the storage cavity of the glandular trichomes. *Plant Cell Physiol.*, 46(9), 1578–1582. doi: 10.1093/pcp/pci166
7. Taura, F., Sirikantaramas, S., Shoyama, Y., Yoshikai, K., Shoyama, Y., & Morimoto, S. (2007). Cannabidiolic-acid synthase, the chemotype-determining enzyme in the fiber-type *Cannabis sativa*. *FEBS Letters*, 581(16), 2929–2934. doi: 10.1016/j.febslet.2007.05.043
8. Morimoto, S., Komatsu, K., Taura, F., & Shoyama, Y. (1998). Purification and characterization of cannabichromenic acid synthase from *Cannabis sativa*. *Phytochemistry*, 49(6), 1525–1529. doi: 10.1016/S0031-9422(98)00278-7
9. de Meijer, E. P., Bagatta, M., Carboni, A., Crucitti, P., Moliterni, V. M., Ranalli, P., & Mandolino, G. (2003). The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. *Genetics*, 163(1), 335–346. doi: 10.1093/genetics/163.1.335

25. Dospikhov, B. A. (1985). *Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy)* [Methods of field experiment (with the basics of statistical processing of research results)]. (5nd ed., rev. and enl.). Moscow: Agropromizdat. [in Russian]
26. *Derzhavnyi reiestr sortiv roslyn, prydatnykh dlia poshyrennia v Ukraini u 2021 rotsi* [State register of plant varieties suitable for dissemination in Ukraine in 2021]. (2021). Retrieved from <https://sops.gov.ua/reestr-sortiv-roslyn> [in Ukrainian]
27. Kyrychenko, H. I., Laiko, I. M., Vyrovets, V. H., & Mishchenko, S. V. (2018). Results of competitive variety testing of new hemp varieties. *Lub'ani ta tehnični kul'turi* [Bast and Technical Crops], 6(11), 14–20. doi: 10.48096/btc.2018.6(11).14-20 [in Ukrainian]
28. Mishchenko, S. V., Kyrychenko, H. I., & Laiko, I. M. (2021). A new variety of industrial hemp 'Artemida' for universal use with a high oil content and fiber quality. *Plant Var. Stud. Prot.*, 17(1), 43–50. doi: 10.21498/2518-1017.17.1.2021.228208 [in Ukrainian]

UDC 633.522:631.52:577

Mishchenko, S. V.*, Laiko, I. M., & Kyrychenko, H. I. (2021). Breeding of industrial hemp with a high content of cannabigerol by the case of 'Vik 2020' cultivar. *Plant Varieties Studying and Protection*, 17(2), 105–112. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.17.2.2021.236514>

*Institute of Bast Crops, NAAS of Ukraine, 45 Tereshchenkiv St., Hlukhiv, Sumy region, 41400, Ukraine, *e-mail: serhii-mishchenko@ukr.net*

Purpose. To create an industrial hemp variety of the Central European ecological and geographical type with a high content cannabigerol and universal application. **Methods.** Breeding (self-pollination, creation of artificial populations, selection), field, biochemical (thin-layer and gas-liquid chromatography of cannabinoid compounds), instrumental and technological assessment of fibre quality, and statistical methods. **Results.** Variety 'Vik 2020' was obtained as a result of creation of artificial populations. The plants are characterized by higher content of cannabigerol ($1.034 \pm 0.0323\%$), and almost zero of other secondary metabolites, such as cannabidivarin, cannabidiol, cannabichromene and psychotropic tetrahydrocannabinol (0.003 ± 0.0011 ; 0.018 ± 0.0080 ; 0.012 ± 0.0027 , and $0.005 \pm 0.0012\%$, respectively). The trait of cannabigerol content is quite stable within the population and is not correlated with the trait of tetrahydrocannabinol content ($r = -0.23$). According to the results of the competitive variety test, when growing to obtain fibre and seeds, the variety features short height,

specifically significantly lower total (206.4 cm) and technical stem length (135.6 cm) compared to the standard variety, significantly higher inflorescence length (70.8 cm), which determine the formation of the significant yield of biomass suitable for pharmaceutical use and high seed yield (0.98 t/ha). The yield of total fibre was the same as in the standard variety (29.0%), but its quality and technological value for primary processing were higher. The variety had a homogeneous sex structure, resistance to biotic and abiotic environmental factors. The vegetation period to the biological maturity stage (BBCH 89) made up 116 days. **Conclusions.** The effectiveness of attracting self-pollinating lines to the breeding process with their subsequent combining into a synthetic population and improving selection was proven by the case of a new variety of industrial hemp 'Vik 2020', characterized by an increased content of cannabigerol and the absence of psychotropic properties.

Keywords: *hemp; cultivar; self-pollination; selection; crossing; cannabinoids; correlation; productivity.*

Надійшла / Received 07.06.2021

Погоджено до друку / Accepted 17.06.2021