

ЛАЙКО І. М.✉, МІЩЕНКО С. В., КИРИЧЕНКО Г. І.

Інститут дуб'яних культур НААН України,

Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул. Терещенків, 45, ORCID: 0000-0003-1514-574X, 0000-0003-3609-3141

✉ ibc_cannabis@ukr.net

ОСОБЛИВОСТІ ПОПУЛЯЦІЙ СОРТІВ КОНОПЕЛЬ З РІЗНИМ СКЛАДОМ КАНАБІНОЇДНИХ СПОЛУК

Мета. Встановити біологічні особливості популяцій сортів конопель з відсутністю наркотичної активності – вмістом тетрагідроканабінолу (ТГК) не вище 0,08 %, але з наявністю неспсихоактивних компонентів канабіноїдів: канабідіолу (КБД) і канабіхромену (КБХ); канабігеролу (КБГ); КБГ і КБД. Виявити перспективи селекції щодо збільшення вмісту канабіноїдів, які мають терапевтичні властивості. **Методи.** Зразки елітних рослин аналізувалися за вмістом канабіноїдів методом газорідинної хроматографії (хроматограф Agilent Technologies HP 6890, Series Hewlett Packard). **Результати.** Межі варіювання популяційної мінливості ознаки вмісту КБД сорту Медана становлять від 0,0253 до 3,3469 %, з яких 75 % рослин містять КБД на рівні 1,0-2,2 %. Дослідженнями популяції гібрида Вік 2020 підтверджено високий кореляційний зв'язок між КБД і ТГК та відсутність взаємозв'язку між КБД і КБГ, ТГК і КБГ. Понад 11 % рослин популяції містять КБГ від 3,5849 до 4,6207 %. Кореляційні зв'язки між КБД і КБГ, КБД і ТГК у цих рослинах відсутні. Наявність таких рослин свідчить про можливість подальшого підвищення вмісту КБГ до 8 % і вище, не перевищуючи обмеження ТГК нашої країни (0,08 %). **Висновки.** Проведеними дослідженнями доведено, що за чинного допустимого рівня ТГК вміст КБД шляхом цілеспрямованої селекції можна підвищити лише до 2,5-3,0 % (сорт Медана). Особливу цінність становить гібрид Вік 2020, у популяції якого виявлено унікальні рослини з наявністю кількох канабіноїдних сполук за вмісту ТГК не більше ніж 0,08 %. Отриманий цінний селекційний матеріал сорту Медана та гібриду Вік 2020 є донором для включення його у гібридизацію та подальшого проведення різновекторної селекції у бік підвищення вмісту КБД, КБХ, КБГ і відсутності ТГК.

Ключові слова: *Cannabis sativa* L., селекція, сорт, канабіноїди, мінливість.

У той час, коли весь світ визнав (наприкінці 60-х років минулого століття) коноплі наркотичними та фактично відмовився від натурального конопляного волокна, селекціонери України розробили унікальну методологію зниження наркотичної активності конопель спочатку до 0,30, потім менше ніж 0,15 % тетрагідроканабінолу (ТГК) і практично до його повної відсутності (0,05-0,000 %), таким чином, було розв'язано проблему соціальної безпеки конопель за виробничого вирощування [1-3].

Універсальність розробок призвела до повернення культури конопель на поля багатьох країн світу, успішно стали розвиватися напрями отримання харчової та технічної продукції з конопель. Паралельно розкрито нові особливості конопель – медичні властивості деяких канабіноїдних сполук. У низці країн відомі були препарати з тетрагідроканабінолу зі знеболюючим ефектом, але про властивості неспсихотропних сполук таких, як канабідіол (КБД), канабігерол (КБГ), канабінол, канабіхромен (КБХ), наприклад, при лікуванні онкозахворювань, стало відомо недавно. Всі лікарські препарати, одержувані на основі конопляної рослини для медицини, в економічно розвинених країнах виготовляються з рослин з високим вмістом КБД та ТГК. Такі препарати мають двоякий ефект: седативний і психотропний. Наявність у рослинах значного вмісту КБД та відсутність або незначна кількість ТГК (не більше 0,08 %) збільшує лікувальний ефект у кілька разів та дозволяє використовувати технічні коноплі з метою профілактики терапії без загрози впливу на організм людини психотропного ефекту та звикання. Безнаркотичні канабіноїди успішно застосовуються при проведенні терапії у хворих, які страждають на онкологічні, нейродегенеративні, аутоімунні захворювання, активно вивчається протипухлинний ефект КБД. Дана сполука підвищує неспецифічну противірусну та протипухлинну імунну реакцію організму людини [4-6].

© ЛАЙКО І. М., МІЩЕНКО С. В., КИРИЧЕНКО Г. І.

Саме тому сорти технічних конопель зі зміненим складом канабіноїдів на рівні повної ненаркотичності на сьогоднішній день можуть стати визначальними як при лікуванні вірусних захворювань, так і для зміцнення імунітету людини. Тим паче, що ці терапевтичні властивості мають багато природних канабіноїдів – КБГ, КБХ, КБН, канабидиварин (КБДВ) та ін. [7]. Вирішенню цих завдань сприяють проведення попередніх досліджень щодо вивчення біологічних властивостей трихом, процесів накопичення канабіноїдів, визначення кореляційних зв'язків між деякими канабіноїдами [8-11].

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження були сорти технічних конопель (*Cannabis sativa* L.) Глухівські 51, Глухівські 85, Гляна, Глесія, Медана, Вік 2020. Всі досліджувані сорти конопель висівали в селекційних розсадниках (сім'ї елітних рослин) за площі живлення 45 × 5 см. Зразки елітних рослин (10 см верхньої частини суцвіття) аналізувалися за вмістом канабіноїдів методом газорідинної хроматографії (хроматограф Agilent Technologies HP 6890, Series Hewlett Packard) при температурі термостата 300°C, інжектора 250°C, з використанням колонки J&W, HP-5MS довжиною 30 м, діаметром 0,251 мм, товщиною покриття 0,25 мкм.

Результати та обговорення

У сортів технічних конопель Гляна, Глесія, Глухівські 51, Глухівські 85, які створені в Інституті луб'яних культур (Україна), вміст КБД та ТГК вважається найнижчим у світі. Вміст ТГК не перевищує 0,0289 % (табл. 1). Дані сорти є основою для створення сортів технічних конопель з терапевтичними властивостями шляхом включення в гібридизацію.

Селекціонерам України вперше у світі вдалося створити ненаркотичний сорт Медану, який містить КБД від 1 до 3 %, а ТГК (контрольований у всьому світі наркотичний компонент конопляної рослини) – менше ніж 0,08 %. Ме-

тодично дана робота була заснована на прямій кореляційній залежності ознак вмісту КБД і ТГК. Діапазон мінливості ознаки вмісту КБД рослин сорту Медану від 1,0 до 3,0 %, а ТГК – від 0,04 до 0,07 %. Цей сорт відрізняється стабільністю канабіноїдного складу (висока однорідність популяції). Крім КБД в біомасі міститься також КБХ, який за твердженням ряду дослідників разом з КБД збільшує лікувальний ефект. Маючи такі біологічні особливості, цей сорт також формує насіння, олію та волокно на рівні стандартних сортів, занесених до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні. Селекційним шляхом також створено гібрид технічних конопель із вмістом лише КБГ Вік 2020 (від 1,0 до 4,6 %).

У процесі створення цих сортів вперше виявлено нові закономірності популяційної мінливості ознак вмісту канабіноїдів. Так, популяція сорту Медана, як зазначено раніше, характеризується наявністю не тільки КБД, а й КБХ, який був виявлений при проведенні тонкошарової хроматографії – пошаровому розділенні канабіноїдів на пластинах. За оцінкою напівкількісним методом вміст КБХ у рослинах коливається від 1 до 5 балів (за 10-ти бальною системою оцінки), що дає можливість проведення подальшого відбору рослин з підвищеним вмістом КБД і КБХ. У популяції виявлено понад 10 % рослин з високим вмістом КБД від 1,8 до 3,28 % (газорідинна хроматографія) та КБХ від 3 до 5 балів (тонкошарова хроматографія).

У процесі селекції спостерігаються дві тенденції, що стримують ефективність відбору, одна – це домінантність ознаки наявності ТГК, інша – сильний прямий кореляційний зв'язок $r = 0,89$ між ознаками вмісту КБД і ТГК. При цьому є ще один обмежувальний чинник – вміст ТГК не має перевищувати 0,08 %. Популяційна мінливість ознаки становить від 0,0253 до 3,3469 %. Межі варіювання ознаки більш ніж у 75 % рослин популяції, становлять від 1,0 до 2,2 % КБД.

Таблиця 1. Вміст канабіноїдів у сортів технічних конопель (2019, 2021 рр.)

Сорт	Вміст канабіноїдів, %					
	2019 р.			2021 р.		
	КБД	ТГК	КБГ	КБД	ТГК	КБГ
Гляна	0,0564	0,0068	0	0,0476	0,0289	0,0171
Глесія	0,0173	0,0096	0	0,0802	0,0056	0
Глухівські 51	0,0100	0,0276	0	0,0305	0	0
Глухівські 85	0,0067	0,0221	0	0,0130	0	0,0041

Під тиском спрямованого відбору кількість рослин з мінімальним вмістом КБД знижується, а з максимумом збільшується і, таким чином, відбувається розширення діапазону прояву ознаки від середнього до максимуму та наступною стабілізацією ознаки (табл. 2).

Отримані результати свідчать, що у технічних конопель у межах обмеження ТГК не вище 0,08 %, вміст КБД можна збільшити лише рівня 2,5-3,0 %. Даний матеріал є цінним генотипами, які містять неспсихотропні канабіноїди з подальшим використанням його в гібридизації.

Досліджуючи різний селекційний матеріал (інцухт-лінії), вперше були виявлені рослини з наявністю тільки КБГ, але порівняно незначним його вмістом, які були включені в гібридизацію з сортом конопель з високим вмістом КБГ. У F₂ (Вік 2020) виявлені рослини з різновекторним розщепленням канабіноїдів:

- 1) мінімум КБД та ТГК, максимум КБГ;
- 2) максимум КБД, мінімум КБГ;
- 3) максимум КБД, наявність КБГ до 1 %.

Нашими дослідженнями також підтверджується високий кореляційний зв'язок між сполуками КБД і ТГК, відсутність зв'язку між КБД і КБГ, ТГК і КБГ. Розщеплення за першим та третім типом проявилось вперше. Дане явище пояснюється тим, що за основу взято сорт технічних конопель, популяцію якого стабілізовано за ознакою повної відсутності всіх канабіноїдів. Враховуючи домінантність ознаки наявності

КБД і ТГК, така гомозиготна популяція у процесі гібридизації з рослинами з підвищеним вмістом КБГ виявляє нові особливості генетичних взаємозв'язків канабіноїдів.

Основну частину рослин популяції представляють рослини із вмістом КБГ понад 2,0 %, зокрема з максимумом КБГ (3,5849-4,6207 %) налічується 11 % рослин. Вміст КБД і ТГК у цих рослинах варіює від 0,0926 до 0,7022 % та від 0,0000 до 0,0211 % відповідно (табл. 3). Тобто ці рослини за наркотично активним компонентом ТГК нейтральні. Кореляційні зв'язки між КБД і КБГ, КБД і ТГК у цих рослинах відсутні. Наявність таких рослин свідчить про можливість подальшого підвищення вмісту КБГ до 8 % і вище, не перевищуючи обмеження ТГК в нашій країні.

Вперше у популяції виявлено 16,7 % рослин із вмістом КБД понад 1,12 %. Унікальним є те, що в цих рослинах максимум КБД 2,8030-5,2114 % поєднується із середньою кількістю КБГ 0,4205-0,8644 % (табл. 4). Гібридизація призвела до розщеплення та виявлення ряду унікальних рослин, кожна з яких може стати родоначальником нових сортів медичного спрямування використання. Особливу цінність мають рослини, що поєднують кілька різних канабіноїдів: КБД, КБХ, КБГ. Їх об'єднання в одній рослині гіпотетично збільшує терапевтичні властивості.

Таблиця 2. Популяційна мінливість ознаки вмісту КБД у процесі добору, сорт Медана, 2017-2021 рр.

Одиниця виміру	Розподіл рослин по класах								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2017 р.									
Шт.	2	15	29	21	6	5	0	0	0
%	2,6	19,2	37,2	26,9	7,7	6,4	0	0	0
2018 р.									
Шт.	14	38	23	2	7	3	1	1	1
%	15,6	42,2	25,6	2,2	7,8	3,3	1,1	1,1	1,1
2019 р.									
Шт.	0	4	13	16	9	6	2	0	0
%	0	8,0	26,0	32,0	18,0	12,0	4,0	0	0
2020 р.									
Шт.	2	7	17	35	24	10	4	0	0
%	2,0	7,1	17,2	35,4	24,2	10,1	4,0	0	0
2021									
Шт.	9	39	67	53	19	10	2	0	2
%	4,5	19,4	33,3	26,4	9,4	5,0	1,0	0	1,0

Примітки: 1 – 0,0253-0,3943; 2 – 0,3944-0,7634; 3 – 0,7635-1,1325; 4 – 1,1326-1,5015; 5 – 1,5016-1,8706; 6 – 1,8707-2,2397; 7 – 2,2398-2,2687; 8 – 2,2688-2,9778; 9 – 2,9779-3,3469 %.

Таблиця 3. Структура популяції рослин гібрида Вік 2020 за вмістом КБГ, 2021 р.

Одиниця виміру	Розподіл рослин за вмістом КБГ КБГ, %									
	>0,5	0,6-1,0	1,1-1,5	1,6-2,0	2,1-2,5	2,6-3,0	3,1-3,5	3,6-4,0	4,1-4,5	<4,6
Шт.	56	8	12	18	33	27	10	7	1	1
%	32,37	4,62	6,94	10,40	19,07	15,60	5,78	4,04	0,57	0,57

Таблиця 4. Розподіл рослин гібрида Вік 2020 за вмістом КБД, 2021 р.

Одиниця виміру	Розподіл рослин по класах										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Шт.	36	99	5	4	4	7	5	1	4	4	4
%	20,80	57,22	2,89	2,31	2,31	4,04	2,89	0,57	2,31	2,31	2,31

Примітки: 1 – <0,1; 2 – 0,11-0,61; 3 – 0,62-1,12; 4 – 1,13-1,63; 5 – 1,64-2,14; 6 – 2,15-2,65; 7 – 2,66-3,16; 8 – 3,17-3,67; 9 – 3,68-4,18; 10 – 4,19-4,69; 11 – >4,7%.

Розмноження рослин з максимумом КБГ показало, що в сім'ях з високою варіабельністю ознаки діапазон мінливості зсувається у бік збільшення як нижньої, так і верхньої межі. Позитивним чинником відбору рослин із максимумом КБГ є і те, що вміст ТГК не збільшився, а залишився лише на рівні 0,00 до 0,03 % у всіх рослин. Причому в окремих рослин із вмістом КБГ понад 4 % ТГК немає, що доводить перспективність подальшого підвищення вмісту КБГ до рівня понад 9 %.

Отриманий цінний селекційний матеріал є донором для включення його в гібридизацію та подальшого проведення різновекторної селекції у бік підвищення вмісту КБГ з відсутністю ТГК, насичення популяції рослинами з наявністю трьох неспсихотропних компонентів канабіної-

дів: КБД, КБХ, КБГ.

Висновки

Проведеними дослідженнями доведено, що за чинного допустимого рівня ТГК не більше 0,08 % в Україні, вміст КБД шляхом цілеспрямованої селекції можна підвищити лише до 2,5-3,0 % (сорт Медана). Особливу цінність становить гібрид Вік 2020, у популяції якого виявлено унікальні рослини з наявністю кількох канабіноїдних сполук за вмісту ТГК не більше ніж 0,08 %. Отриманий цінний селекційний матеріал сортів Медана та гібриду Вік 2020 є донором для включення їх у гібридизацію та подальшого проведення різновекторної селекції у бік підвищення вмісту неспсихотропних сполук при відсутності ТГК.

References

- Layko I. M., Vyrovets V. H., Beherec O., Kirichenko H. I., Mishchenko S. V., Kmets I. L. The Ukrainian and French breeders operations to elimination of drug property of sowing hemp (*Cannabis sativa* L.). *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*. 2015. Part II. P. 414–417.
- Laiko I. M. The uniqueness of biological characteristics of technical hemp and prospects for its practical use. *Plant Breeding and Seed Production*. 2020. Vol. 117. P. 80–90. doi: 10.30835/2413-7510.2020.206985
- Salentijn E. M. J., Zhang Q., Amaducci S., Yang M., Trindade L. M. New developments in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) breeding. *Ind. Crop. Prod.* 2015. Vol. 68. P. 32–41. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.08.011.
- Rong C., Lee Y., Carmona N. E., Cha D. S., Ragguett R.-M., Rosenblat J. D., Mansur R. B., Ho R. C., McIntyre R. S. Cannabidiol in medical marijuana: Research vistas and potential opportunities. *Pharmacol. Res.* 2017. 121. P. 213–218. doi: 10.1016/j.phrs.2017.05.005
- Deiana S. Potential medical uses of cannabigerol: a brief overview. In *Preedy V. R. (Ed.). Handbook of Cannabis and Related Pathologies: Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment*. Cambridge, MA : Academic Press, 2017. P. 958–967. doi: 10.1016/B978-0-128007563.00115-0.
- Maumevičius E., Burbulis N., Jankauskienė Z., Blinstrubienė A., Laiko I. The effect of sowing and fertilization rates on the productivity of seed hemp (*Cannabis sativa* L.). *Žemės ūkio mokslai*. 2019. Vol. 26 (2). P. 72–82. doi: 10.6001/zemesukiomokslai.v26i2.4061. [in Lithuanian]
- Laiko I. M., Mishchenko S. V., Orlov M. M., Marynchenko I. O., Shkurdoda S. V., Pasichnyk V. V. Prospects of re-orientation of hemp breeding for creation of pharmaceutical varieties. *Scientific works of the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet of NAAS*. 2015. Vol. 23. P. 107–111. [in Ukrainian]
- Myhal M. D., Kmets I. L., Layko I. M. Hemp Trichomes and Cannabinoids. Sumy : FOP Shcherbyna I. V., 2017. 228 p. [in Ukrainian]
- Mishchenko S. V., Laiko I. M. Determination of the level of stability of the sign of absence of cannabinoids in hemp by self-pollination. *Scientific works of the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet of NAAS*. 2012. Vol. 14. P. 487–490. [in Ukrainian]
- Laiko I. M., Mishchenko S. V., Kyrychenko H. I. Variability of cannabinoid contents depending on breeding methods. *Plant Breeding and Seed Production*. 2021. Vol. 119. P. 24–33. doi: 10.30835/2413-7510.2021.236989.

11. Kyrychenko H. I., Laiko I. M., Mishchenko S. V. Analysis of collection samples of *Cannabis sativa* L. according to the content of cannabinoid compounds and chemotype. *Plant Genetic Resources*. 2019. Vol. 25. P. 115–128. doi: 10.36814/pgr.2019.25.09. [in Ukrainian]

LAIKO I. M., MISHCHENKO S. V., KYRYCHENKO H. I.

*Institute of Bast Crops of the Natl. Acad. Agr. Sci. of Ukraine,
Ukraine, 41400, Sumska obl., Hlukhiv, Tereshchenkiv str., 45*

FEATURES OF POPULATIONS OF HEMP VARIETIES WITH DIFFERENT COMPOSITION OF CANNABINOID COMPOUNDS

Aim. To study the biological features of populations of hemp varieties with the absence of narcotic activity – tetrahydrocannabinol (THC) not higher than 0.08 %, but with the presence of non-psychoactive components of cannabinoids: cannabidiol (CBD) and cannabichromene (CBC); cannabigerol (CBG); CBG and CBD. To identify breeding prospects for increasing the content of cannabinoids that have therapeutic properties. **Methods.** Samples of elite plants were analyzed for cannabinoid content by gas-liquid chromatography (GC Agilent Technologies HP 6890, Series Hewlett Packard). **Results.** The limits of variation of the population variability of the sign of CBD content of the Medana variety are from 0.0253 to 3.3469 %, 75 % of the plants of which contain CBD in the range of 1.0-2.2 %. Studies of the Vik 2020 hybrid population confirmed a high correlation between CBD and THC and the absence of a relationship between CBD and CBG, THC and CBG. More than 11 % of plants in the population contain CBG from 3.5849 to 4.6207 %. There are no correlations between CBD and CBG, CBD and THC in these plants. The presence of such plants indicates the possibility of further increasing the content of CBG to 8 % and above, without exceeding the THC limit in our country (0.08 %). **Conclusions.** Conducted research has proven that with the current permissible level of THC, the content of CBD can be increased only to 2.5-3.0 % (Medana variety) through purposeful selection. The hybrid Vik 2020 is especially valuable, because in its population unique plants with the presence of several cannabinoid compounds with a THC content of no more than 0.08 % were found. The obtained valuable breeding material of the Medana variety and the Vik 2020 hybrid is a donor for its inclusion in hybridization and further multi-vector selection in the direction of increasing of the content of CBD, CBC and CBG with the absence of THC.

Keywords: *Cannabis sativa* L., breeding, variety, cannabinoids, variability.