DOI https://doi.org/10.30525/978-9934-26-086-5-32

УСПАДКУВАННЯ ОЗНАКИ ВМІСТУ КАНАБІНОЇДНИХ СПОЛУК ГІБРИДАМИ ПРОМИСЛОВИХ КОНОПЕЛЬ ТА ТЕОРІЯ ЇЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ДЕТЕРМІНАЦІЇ

Міщенко С. В., Лайко І. М.

ВСТУП

Канабіноїди є специфічними речовинами конопель посівних (*Cannabis sativa* L.), які належать до класу ароматичних сполук і синтезуються та накопичуються переважно у залозистих трихомах (волосках)[1,2,3]. Прийнято вважати, що канабіноїди виконують захисну роль у конопель, при цьому зменшення їх вмісту і кількості трихом у промислових зразків істотно не змінюють зазначену фізіологічну функцію, оскільки достатнім є синтез цих речовин у невеликих кількостях іншими клітинами рослинного організму. Біосинтез канабіноїдів відбувається на поверхні плазматичної мембрани або в клітинній стінці на межі із секреторною порожниною. Канабіноїди трапляються не лише в клітинах видільних тканин, що свідчить про те, що гени синтезу цих сполук можуть експресуватися у всіх клітинах рослини, однак саме залозисті трихоми спеціалізовані на синтезі високих концентрацій канабіноїдів, в інших тканинах уміст цих речовин мізерний[4]. Канабіноїди виявляють токсичну дію для власних рослинних клітин конопель, змінюють проникність мембран мітохондрій, спричиняють деградацію ДНК, що викликає

[1] Мигаль М.Д., Кмець І.Л., Лайко І.М. Трихоми і канабіноїди конопель. До теорії селекції ненаркотичних сортів : монографія. Суми, 2017. 228 с.

[2] Rodziewicz P., Loroch S., Marczak Ł. et al. Cannabinoid synthases and osmoprotective metabolites accumulate in the exudates of *Cannabis sativa* L. glandular trichomes. *Plant Science*. 2019. Vol. 284. P. 108–116. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.04.008

[3] Wagner G. J. Secreting glandular trichomes: more than just hairs. *Plant Physioligy*. 1991. Vol. 96, Iss. 3. P. 675–679. DOI: 10.1104/pp.96.3.675

[4] Mahlberg P. G., Kim E. S. Accumulation of cannabinoids in glandular trichomes of *Cannabis* (*Cannabaceae*). *Journal of Industrial Hemp*. 2004. Vol. 9, Iss. 1. P. 15–36. DOI: 10.1300/J237v09n01_04

апоптоз[5,6]. Для його уникнення і виникла адаптація до накопичення та зберігання канабіноїдних сполук у спеціалізованих видільних тканинах – порожнинах залозистих трихом, які є місцем завершального етапу біосинтезу цих речовин[7].

Найбільш поширеними канабіноїдними сполуками є тетрагідроканабінолова кислота (далі – ТГКК), канабідіолова кислота (далі – КБДК) і канабігеролова кислота (далі – КБГК). Відповідні їм біоактивні форми канабіноїдів – тетрагідроканабінол (далі – ТГК), канабідіол (далі – КБД) і канабігерол (далі – КБГ) – утворюються в результаті реакції декарбоксилування під впливом зовнішніх умов[8]. Загалом, у конопель виявлено близько 120-ти фітоканабіноїдів[9], які останнім часом класифікують за їх хімічною структурою, загалом виділяючи 11 підкласів: сім типів КБГ; п'ять типів канабіхромену (далі – КБХ); п'ять типів КБД; основний психоактивний Δ^9-ТГК у дев'яти різних формах, включаючи його прекурсор Δ^9-ТГКК (кислотну форму), і Δ^8-ТГК, який є найбільш стійким ізомером Δ^9-ТГК, але на 20% менш активним; три типи канабіциклолу (далі – КБЛ), п'ять різних форм канабіелсоїну (далі – КБЕ); сім типів канабінолу (далі – КБН), який є кінцевим продуктом синтезу (окиснення) Δ^9-ТГК; канабітріол (далі – КБТ); канабідіварін (далі – КБДВ); тетрагідроканабіварін (далі – ТГКВ); різний тип[10,11,12].

---

[5] Morimoto S., Tanaka Y., Sasaki K. et al. Identification and characterization of cannabinoids that induce cell death through mitochondrial permeability transition in cannabis leaf cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 2007. Vol. 282, No 28. P. 20739–20751. DOI: 10.1074/jbc.M700133200

[6] Shoyama Y., Sugawa C., Tanaka H. et al. Cannabinoids act as necrosis-inducing factors in *Cannabis sativa*. *Plant Signaling & Behavior*. 2009. Vol. 3, Iss. 12. P. 1111–1112. DOI: 10.4161/psb.3.12.7011

[7] Mahlberg P.G., Kim E.-S. Immunochemical localization of tetrahydrocannabinol (THC) in cryofixed glandular trichomes of *Cannabis* (*Cannabaceae*). *American Journal of Botany*. 1997. Vol. 84, Iss. 3. P. 336–342. DOI: 10.2307/2446007

[8] Happyana N., Agnolet S., Muntendam R. et al. Analysis of cannabinoids 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

[9] Hanuš L. O., Meyer S. M., Muñoz E. et al. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. *Natural Product Report.* 2016. Vol. 33, Iss. 12. P. 1357–1392. DOI: 10.1039/C6NP00074F

[10] Elsohly M. A., Slade D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences.* 2005. Vol. 78, Iss. 5. P. 539–548. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.09.011

Створені протягом останніх десятиліть сорти конопель хоча і характеризуються майже повною відсутністю психотропного ТГК (від 0,00 до 0,01%), однак популяції таких сортів дещо нестабільні і потребують постійного контролю та нейтралізації фізіолого-біохімічної функції рослин до формування канабіноїдів селекційним шляхом на основі встановлення генетичних закономірностей даного явища.

Актуальності додає ще й те, що біохімічні шляхи та особливості накопичення канабіноїдів вивчені здебільшого або у верхівках рослин конопель, де вияв ознаки максимальний, або для сортів із високим умістом канабіноїдів. Останнім часом зростає інтерес саме до сортів промислових конопель (із відсутністю ТГК чи його дуже низьким умістом), які містять непсихотропні сполуки з лікувальними властивостями, як-от КБД, КБГ, КБХ, КБН та ін. Проблема вивчення особливостей успадкування ознак наявності та вмісту канабіноїдів, розробки теорії їх генетичного контролю пов'язана з потребою в розробці нових і удосконаленні наявних методів чи прийомів створення вихідного матеріалу з відсутністю психотропних властивостей та практичного їх упровадження.

Для її (хоча б часткового) вирішення провели аналіз реципрокних гібридів, отриманих шляхом схрещування рослин зі стабільних ліній сорту конопель Глухівські 58 із різним умістом канабіноїдів – відсутністю, мінімальним і максимальним[13], результати якого описані у двох нижченаведених параграфах.

1. Особливості успадкування ознаки вмісту канабіноїдів реципрокними гібридами конопель F_1

Виявлення особливостей успадкування ознаки вмісту канабіноїдів було проведене у гібридів конопель F_1 та BC_1, створених у результаті схрещування рослин із різним рівнем вираження ознак, які відповідають мінімальним і максимальним значенням величин у межах популяції. При цьому за відсутність

[11] Leghissa A., Hildenbrand Z., Schug K. A. A review of methods for the chemical characterization of cannabis natural products. *Journal of Separation Science*. 2018. Vol. 41, Iss. 1. P. 398–415. DOI: 10.1002/jssc.201701003

[12] Radwan M. M. Wanas A. S. Chandra S. et al. Natural cannabinoids of cannabis and methods of analysis // *Cannabis sativa* L. – Botany and Biotechnology / S. Chandra et al. (eds.). Cham, 2017. P. 161–182. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6_7

[13] Міщенко С.В. Теоретичні і практичні основи використання інбридингу і гібридизації в селекції конопель : дис. … докт. с.-г. наук : 06.01.05. Харків, 2020. 525 с.

вважали 0 балів за даними тонкошарової хроматографії, за мінімум – від слабких слідів (0,25 бала) і слідів (0,5 бала) до 1 бала, за максимум – найбільший уміст канабіноїдів, що виявився, але який не перевищує дозволеної законодавством норми – 0,08% ТГК.

У першому поколінні гібридів відсутність/відсутність все ж таки виявились окремі рослини, які містили канабіноїди, хоча і у невеликій кількості: у середньому вміст КБД становив 0,22 і ТГК – 0,20 бала, тобто нижче рівня слабких слідів за умови їх ідентифікації методом тонкошарової хроматографії. У різних сімей уміст цих сполук коливався від 0 до 0,71 і від 0 до 1,00 бала відповідно (табл. 1), тобто ознака відсутності канабіноїдів не є якісною і рецесивною гомозиготною, генетичний контроль її успадкування є більш складним. Для селекції важливим є той факт, що у потомстві цього гібриду можливе проведення добору знаної кількості сімей із відсутністю канабіноїдних сполук, а контроль за їх умістом має бути тотальним.

Таблиця 1

Успадкування вмісту канабіноїдів у гібридів конопель F_1 та BC_1, створених у результаті схрещування рослин з різним рівнем вираження ознак (середнє, 2009 і 2011 рр., загальний обсяг вибірки – 958)

Гібрид	Вміст канабіноїдів у гібридів, балах			
	КБД		ТГК	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Min–Max у межах сімей	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Min–Max у межах сімей
F_1				
відсутність / відсутність	0,22±0,066	0–0,71	0,20±0,118	0–1,00
відсутність / мінімум	0,30±0,104	0,02–0,81	0,24±0,149	0–1,06
мінімум / відсутність	1,29±0,251	0,51–1,85	1,54±0,522	0,12–2,35
відсутність / максимум	0,87±0,192	0,12–3,01	0,70±0,206	0–2,87
максимум / відсутність	1,40±0,293	0,24–3,47	1,88±0,295	0,09–3,15
$НІР_{05}$	0,22		0,30	
BC_1				
відсутність / максимум // відсутність	0,06±0,023	0–0,12	0	0
максимум / відсутність // відсутність	0,26±0,050	0,09–0,42	0	0

Реципрокні гібриди конопель F_1 відсутність / мінімум і мінімум / відсутність характеризувались відмінним характером успадкування ознаки вмісту канабіноїдів. Слід констатувати вплив напряму схрещувань на вияв досліджуваної ознаки у гібридів: високий вміст

канабіноїдів передається переважно материнською лінією, тобто у реалізації фенотипового вияву беруть участь не лише генетичні, а й фактори цитоплазми. Так, уміст КБД у гібридів відсутність / мінімум становив 0,30, ТГК – 0,24 бала порівняно з гібридами мінімум / відсутність, у яких ці показники за середніми даними мали вираження на рівні 1,29 і 1,54 бала відповідно. Аналіз потомства у межах сімей показав значний розмах варіації ознак. Так, у гібридів відсутність / мінімум вміст КБД коливався від 0,02 до 0,81, ТГК – від 0 до 1,06 бала, у мінімум / відсутність – від 0,51 до 1,85 і від 0,12 до 2,35 бала відповідно. На відміну від гібридів мінімум / відсутність сім'ї з відсутністю психотропного ТГК виявилися лише у гібридів відсутність / мінімум.

Побудова кумулятивного графіку частоти вияву ознак дає можливість констатувати, що у гібридів відсутність / мінімум найбільша кількість рослин містили канабіноїдні сполуки на рівні 0, 0,25, 0,5 та 1 бал, а у гібридів мінімум / відсутність – на рівні 0,5, 1, 2 та 3 бали, досить значна частка рослин (близько 15%) характеризувалась умістом канабіноїдів на рівні 10 балів (рис. 1, 2).

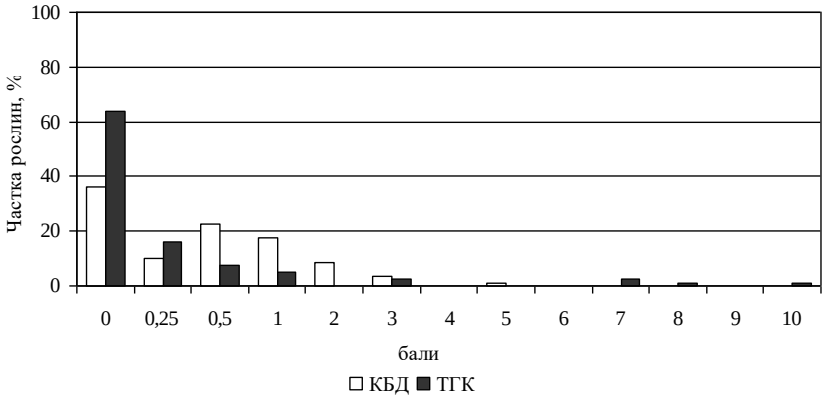

Рис. 1. Розподіл рослин гібрида F_1 відсутність / мінімум за бальною шкалою канабіноїдних сполук (середнє, 2009 і 2011 рр.)

Аналогічно напрям схрещувань впливає на вияв досліджуваної ознаки у гібридів відсутність / максимум і зворотного до них схрещувань максимум / відсутність: перші мали істотно нижчий уміст канабіноїдів порівняно з іншими. У гібридів F_1 відсутність / максимум уміст КБД становив 0,87 (у межах сімей –

0,12–3,01 бала), ТГК – 0,70 (у межах сімей – 0–2,87 бала), тоді як у F_1 максимум / відсутність – 1,40 (0,24–3,47 бала) і 1,88 (0,09–3,15 бала) відповідно.

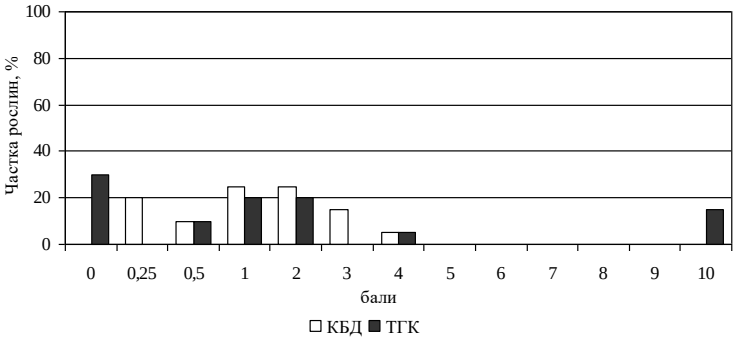

Рис. 2. Розподіл рослин гібрида F_1 мінімум / відсутність за бальною шкалою канабіноїдних сполук (середнє, 2009 і 2011 рр.)

Проведення гібридизації за типом аналізувальних схрещувань засвідчило, що цей прийом є ефективним для зниження вмісту канабіноїдних сполук. У BC_1 (порівняно з F_1) вміст КБД значно зменшився, а ТГК взагалі був відсутній. КБД виявився менше саме у варіанті відсутність / максимум // відсутність порівняно з варіантом максимум / відсутність // відсутність. Також у першому варіанті BC_1 ознаки вмісту цих сполук були більш стабільними (вирівняними), бо мали нижчу різницю між мінімальним і максимальним значенням або незначний розмах варіації – 0–0,12 бала КБД порівняно з іншим варіантом BC_1, де ці показники коливались у межах 0,09–0,42 бала. Сім'ї з повною відсутністю всіх досліджуваних компонентів канабіноїдів також присутні лише у BC_1 відсутність / максимум // відсутність (див. табл. 1).

Розподіл рослин гібридів BC_1 відсутність / максимум // відсутність у відсотках за бальною шкалою канабіноїдних сполук (кумулятивний графік частоти) показав більшість рослин із 0 балів, що було цілком прогнозовано і очевидно, близько 10% особин мали вміст КБД на рівні слідів (відповідає 0,5 бала), а у гібридів BC_1 максимум / відсутність // відсутність значна кількість рослин виявилась із показником 0,25–1 бал (рис. 3, 4).

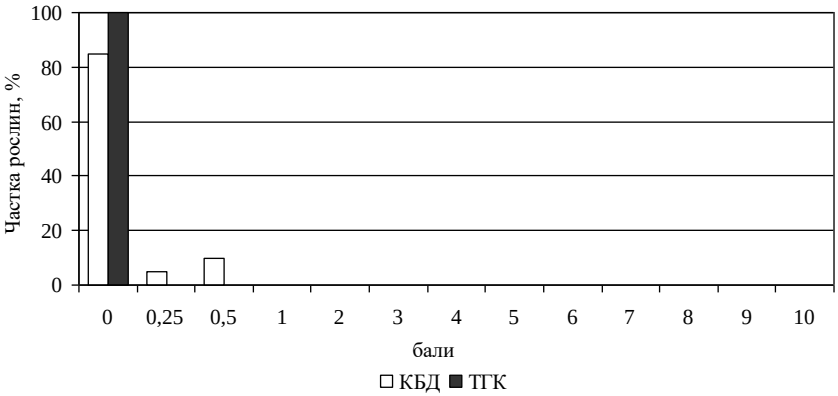

Рис. 3. Розподіл рослин гібрида BC_1 відсутність / максимум // відсутність за бальною шкалою канабіноїдних сполук (середнє, 2009 і 2011 рр.)

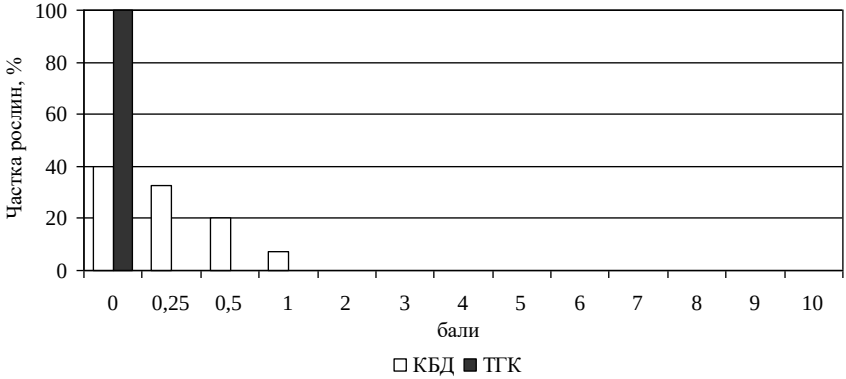

Рис. 4. Розподіл рослин гібрида BC_1 максимум / відсутність // відсутність за бальною шкалою канабіноїдних сполук (середнє, 2009 і 2011 рр.)

Установлено, що у процесі гібридизації рослин із відсутністю КБД і ТГК в обох батьківських форм у потомстві вищеплюються рослини з їх наявністю. Існує тенденція до передання ознаки вмісту канабіноїдів переважно материнською лінією, тобто ознака успадковується за ядерно-цитоплазматичним типом. Перезапилення рослин із 0 балів трьох компонентів із максимальним їх умістом (2–10 балів) веде не до стрімкої появи рослин зі значним умістом

канабіноїдів у потомстві, а до 1–3 балів у середньому, що важливо під час створення сортів із відсутністю психотропних сполук.

У гібридів першого покоління відсутність / мінімум установлено негативне неповне домінування ознаки високого вмісту КБД (hp = –0,82) і негативне часткове домінування, близьке до негативного напівдомінування, високого вмісту ТГК (hp = –0,45) і негативне неповне, також близьке до негативного напівдомінування, високого вмісту КБН (hp = –0,52). Характер домінування значно залежить від генотипів конкретних батьківських форм, взятих для схрещування, оскільки в межах сімей установлено значні розбіжності у коефіцієнтах: виявився розмах від позитивного наддомінування до негативного наддомінування. У реципрокного гібриду F_1 мінімум / відсутність встановлено факт наддомінування ознак високого вмісту КБД, ТГК і КБН. Коефіцієнти hp становили 1,75, 5,14 і 2,82 відповідно. Як бачимо, особливо високе значення цього коефіцієнта властиве ознаці вмісту ТГК, що є негативним для селекції і вимагає проведення багаторазових доборів на зменшення вмісту цієї сполуки. У межах сімей (за невеликим винятком) коефіцієнти були додатними (наддомінування, неповне, часткове) (табл. 2).

Таблиця 2

Особливості домінування ознаки високого вмісту канабіноїдів у гібридів конопель F_1 (коефіцієнти hp, 2009 і 2011 рр.)

Гібрид	КБД		ТГК		КБН	
	за середнім и даними	в межах сімей	за середнім и даними	в межах сімей	за середнім и даними	в межах сімей
відсутність / мінімум	–0,82	Н, Ч, ННД, НН, НЧ	–0,45	НД, Н, НП, НН, НЧ	–0,52	Н, Ч, НП, НН, НЧ
мінімум / відсутність	1,75	НД, Н	5,14	НД, Ч, НН	2,82	НД
відсутність / максимум	–0,86	ННД, НП, НН, НЧ	–0,80	НП, НН, НЧ	–0,66	Ч, НП, НН, НЧ
максимум / відсутність	–0,16	Н, Ч, НН, НЧ	–0,53	Ч, НН, НЧ	–0,22	НД, Ч, НН, НЧ

Примітки: НД – наддомінування, Н – неповне, Ч – часткове, ННД – негативне наддомінування, НП – негативне повне, НН – негативне неповне, НЧ – негативне часткове

Подібно до гібридів F_1 відсутність / мінімум, у гібридів F_1 відсутність / максимум установлено негативне неповне домінування ознак високого вмісту КБД (hp = –0,86), ТГК (hp = –0,80) і КБН (hp = –0,66). У межах сімей здебільшого

отримано від'ємні коефіцієнти, лише для ознаки КБН – часткове, негативне повне, негативне неповне і негативне часткове. Дещо несподіваним виявився характер домінування досліджуваних ознак у гібридів типу максимум / відсутність. Здавалося б логічним, що в цьому варіанті схрещувань повинні отримати наддомінування, як у гібридів мінімум / відсутність, але за середніми даними гібридів 2009 і 2011 рр. коефіцієнт домінування hp для ознаки високого вмісту КБД становив –0,16 (значення близьке до нуля, що вказує на незначні зміни у вмісті канабіноїдів порівняно з материнською формою), hp для ознаки високого вмісту ТГК склав –0,53 (характер успадкування близький до напівдомінування), hp для ознаки високого вмісту КБН становив –0,22 (також значення не дуже велике, тобто вміст канабіноїдів змінився слабко (порівняно з материнською формою)).

Таку тенденцію домінування ознак могли спричинити щонайменше два фактори: 1) значна гетерозиготність вихідних форм із максимумом канабіноїдів як компонентів схрещувань (порівняно з материнськими формами, що містили мінімум цих сполук); 2) складний полігенний характер успадкування ознаки вмісту канабіноїдів.

2. Особливості успадкування ознаки вмісту канабіноїдів гібридами конопель F_2, створеними у результаті схрещування рослин із різним рівнем її вираження

Оскільки у потомстві гібридів F_1 різних варіантів схрещувань вищеплювались рослини як із повною відсутністю всіх досліджуваних компонентів канабіноїдів, так і з їх наявністю (навіть у варіанті відсутність / відсутність), у подальшу гібридизацію для отримання F_2 у кожному варіанті добирали форми за принципом «наявність чи відсутність» канабіноїдів, що дало змогу різнобічно оцінити матеріал і запропонувати прийоми зниження ТГК. Як наслідок, установлена чітка закономірність залежності ознак потомства від напряму схрещування і того, з яким умістом канабіноїдів була взята вихідна рослина для отримання F_2 (табл. 3).

Дослідження показали, що у гібридів F_2 відсутність / відсутність синтезувалась невелика канабіноїдів, яка становила у середньому 0,06 КБД, 0,04 ТГК і 0,03 бала КБН. У межах сімей ці показники також не дуже високі, вони не перевищують порогу слабких слідів (від 0 до 0,22 бала).

Таблиця 3

Успадкування вмісту канабіноїдів у гібридів конопель F_2, створених у результаті схрещування рослин із різним рівнем вираження ознак (середнє, 2010–2011 рр., загальний обсяг вибірки – 480)

Гібрид	Вміст у F_1, балах	Вміст канабіноїдів у гібридів F_2, балах					
		КБД		ТГК		КБН	
		$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Min–Max у межах сімей	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Min–Max у межах сімей	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Min–Max у межах сімей
відсутність / відсутність	КБД 0 ТГК 0 КБН 0	0,06 ± 0,032	0–0,14	0,03 ± 0,025	0–0,11	0,03 ± 0,026	0–0,12
	КБД 0,5 ТГК 0 КБН 0	0,06 ± 0,029	0–0,12	0,06 ± 0,050	0–0,22	0,03 ± 0,015	0–0,11
середнє		**0,06**	**($t_ф$ = 0)**	**0,04**	**($t_ф$ = 0,54)**	**0,03**	**($t_ф$ = 0)**
відсутність / мінімум	КБД 0 ТГК 0 КБН 0	0,07 ± 0,040	0,02–0,12	0,01 ± 0,008	0–0,02	0,03 ± 0,018	0–0,06
	КБД 1 ТГК 0,5 КБН 1	0,34 ± 0,076	0,16–0,51	0,09 ± 0,039	0,01–0,17	0,16 ± 0,086	0,05–0,26
середнє		**0,20**	**($t_ф$ = 3,15)**	**0,05**	**($t_ф$ = 2,01)**	**0,10**	**($t_ф$ = 2,81)**
мінімум / відсутність	КБД 0 ТГК 0 КБН 0	0,22 ± 0,063	0,10–0,22	0,05 ± 0,025	0–0,05	0,10 ± 0,050	0–0,10
	КБД 1 ТГК 0,25 КБН 2	0,76 ± 0,292	0,25–0,76	0,45 ± 0,220	0,25–0,45	2,66 ± 0,884	0,25–2,66
середнє		**0,49**	**($t_ф$ = 1,81)**	**0,25**	**($t_ф$ = 1,81)**	**1,38**	**($t_ф$ = 2,89)**
відсутність / максимум	КБД 0 ТГК 0 КБН 0	0,08 ± 0,048	0,05–0,12	0,02 ± 0,014	0–0,12	0,22 ± 0,200	0,05–0,40
	КБД 3 ТГК 5 КБН 4	1,51 ± 0,280	1,41–1,61	1,22 ± 0,400	0,78–1,66	1,69 ± 0,485	1,38–2,00
середнє		**1,46**	**($t_ф$ = 5,04)**	**1,00**	**($t_ф$ = 3,00)**	**1,54**	**($t_ф$ = 2,80)**
максимум / відсутність	КБД 0 ТГК 0 КБН 0	1,44 ± 0,262	0,41–3,15	1,71 ± 0,450	0,21–4,49	2,28 ± 0,535	0,39–5,72
	КБД 4 ТГК 5 КБН 7	2,86 ± 0,226	2,80–3,00	3,58 ± 0,408	2,80–3,85	4,87 ± 0,500	3,28–5,58
середнє		**2,15**	**($t_ф$ = 4,10)**	**2,64**	**($t_ф$ = 3,08)**	**3,58**	**($t_ф$ = 3,54)**
$НІР_{05}$		0,46		0,57		0,81	

Примітка: t_{05} = 1,96, t_{01} = 2,58, t_{001} = 3,29

Гібриди F_2 мінімум / відсутність, отримані у результаті схрещування гібридів першого покоління з відсутністю канабіноїдів, містили 0,22 КБД, 0,05 ТГК і 0,10 бала КБН. Гібриди, отримані у результаті схрещування рослин першого покоління із вмістом 1 КБД, 0,25 ТГК і 2 бали КБН, характеризувались порівняно вищим умістом аналізованих сполук – 0,76 КБД, 0,45 ТГК і 2,66 бала КБН і відсутністю сімей із нульовими балами психотропного ТГК, однак гібриди не перевищували батьківські форми, тобто не спостерігалось повне домінування, хоча також у потомстві відбулось розщеплення за досліджуваними ознаками.

Аналогічну тенденцію виявили гібриди F_2 відсутність / максимум і F_2 максимум / відсутність. Під час добору за батьківську форму рослин конопель із нульовими значеннями успадковується їх відсутність чи незначні кількості, що особливо чітко виражено у варіанті відсутність / максимум (0,08 КБД, 0,02 ТГК і 0,22 бала КБН).

Найвищий уміст канабіноїдних сполук ідентифіковано у варіанті максимум / відсутність із показниками батьківських форм 4 КБД, 5 ТГК і 7 балів КБН. У цього гібрида вміст КБД становив 2,86 (в межах сімей – 2,80–3,00), ТГК – 3,58 (у межах сімей – 2,80–3,85) і КБН – 4,87 бала (у межах сімей – 3,28–5,58 бала), що у будь-якому разі нижче вихідної форми (див. табл. 3).

Результати аналізу гібридів другого покоління також свідчать про те, що генетична детермінація ознак наявності та вмісту канабіноїдів досить складна, але у селекційному плані простіше і швидше проводити добір у гібридів типу відсутність / відсутність, відсутність / мінімум і відсутність / максимум, тобто за материнську форму добирати матеріал із нульовими показниками канабіноїдних сполук. У таких гібридів не лише менший вміст цих речовин, а й у F_2 не з'являються рослини з їх високим умістом. До того ж у результаті схрещувань у зазначених напрямах кореляційні зв'язки між канабіноїдними сполуками слабші, що також сприятиме прискоренню ефективності селекційного добору (табл. 4).

Таблиця 4

Коефіцієнти парної кореляції між ознаками вмісту КБД і ТГК у гібридів, створених у результаті схрещування рослин із різним рівнем їх вираження (середнє, 2010–2011 рр.)

Гібрид	Коефіцієнт
F_1 відсутність / мінімум	0,48
F_1 мінімум / відсутність	0,74
F_2 відсутність / мінімум	0,66
F_2 мінімум / відсутність	0,82

*Примітка: * – значення істотні на рівні значущості 0,05*

У гібридів F_1 відсутність / мінімум і F_2 відсутність / мінімум $r_{КБД\ ТГК}$ становлять 0,48 і 0,66, а у реципрокних F_1 мінімум / відсутність і F_2 мінімум / відсутність $r_{КБД\ ТГК}$ становлять 0,74 і 0,82 відповідно. Таким чином, виявлено закономірність, що у другому поколінні гібридів кореляційний зв'язок стає сильнішим.

3. Теорія генетичного контролю ознаки вмісту канабіноїдів

Для встановлення генетичних механізмів контролю ознаки вмісту канабіноїдів потрібно розуміти шляхи біосинтезу цих сполук. Установлено, що попередники біосинтезу канабіноїдів утворюються двома різними біосинтетичними шляхами: 1) полікетидним, у результаті чого продукується оліветолова кислота; 2) пластидним, у результаті чого продукується геранілдифосфат. Із них за участю пренілтрансферази синтезується КБГК, яка є центральним попередником восьми різних канабіноїдів[14,15] (як мінімум). Також виявлено та охарактеризовано специфічні синтази, які ферментують певну канабіноїдну сполуку[16,17]: ТГКК-синтаза перетворює КБГК в ТГКК[18], відповідно КБДК-синтаза – в КБДК[19] і КБХК-синтаза – в КБХК[20].

---

[14] Fellermeier M., Zenk M. H. Prenylation of olivetolate by a hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol. *FEBS Letters*. 1998. Vol. 427, Iss. 2. P. 283–285. DOI: 10.1016/S0014-5793(98)00450-5

[15] Zirpel B., Kayser O., Stehle F. Elucidation of structure-function relationship of THCA and CBDA synthase from *Cannabis sativa* L. *Journal of Biotechnology*. 2018. Vol. 284. P. 17–26. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.031

[16] Degenhardt F., Stehle F., Kayser O. The biosynthesis of cannabinoids // Handbook of *Cannabis* and Related Pathologies: Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment / V. R. Preedy (ed.). 2017. P. 13–23. DOI: 10.1016/B978-0-12-800756-3.00002-8

[17] Taura F., Tanaya R., Sirikantaramas S. Recent advances in cannabinoid biochemistry and biotechnology. *Science Asia*. 2019. Vol. 45. P. 399–407. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2019.45.399

[18] 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 and Cell Physiology*. 2005. Vol. 46, Iss. 9. P. 1578–1582. DOI: 10.1093/pcp/ pci166

[19] 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

[20] Morimoto S., Komatsu K., Taura F. et al. 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

Гени для ТГКК-синтази і КБДК-синтази вважають кодомінантними алелями в одному локусі, тобто жоден із них не є рецесивним, а гетерозиготні рослини експресують обидва фенотипи. 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[21], водночас ген для КБХК-синтази перебуває в незалежному локусі. RAPD-аналіз показав, що здатність накопичувати ТГК не є домінантною ознакою, КБД синтезується раніше, первинний синтез непсихотропного КБД пов'язаний із високою активністю КБДК-синтази[22]. Так, вченими було запропоновану генетичну модель успадкування ознак вмісту канабіноїдних сполук[23], за якою один локус *B* має два кодомінантні алелі, описані як B_D і B_T, що кодують дію ферментів – КБД-синтази і/або ТГК-синтази – з різною ефективністю під час перетворення КБГ (попередника) в КБД чи ТГК відповідно, їх кислотних форм. Ген B_C кодує дію ферментів КБХ-синтази [24].

На основі цієї моделі прийнято виокремлювати декілька хімічних фенотипів (хемотипів) конопель на основі співвідношення певних канабіноїдів: хемотип I – психотропні коноплі з переважанням ТГК, тобто низьким співвідношенням КБД/ТГК (ТГК > 0,3%, КБД < 0,5%; алелі – B_TB_T або B_TB_0); хемотип II – коноплі, яким властиве проміжне співвідношення КБД/ТГК, близьке до 1 (ТГК ≥ 0,3%, КБД > 0,5%; алелі – B_TB_D); хемотип III – волокнисті коноплі з переважанням КБД і високим співвідношенням КБД/ТГК, у яких уміст ТГК становить від невеликого відсотка до повної відсутності (ТГК < 0,3%, КБД > 0,5%; алелі – B_DB_D або B_DB_0); хемотип IV – коноплі з переважанням КБГ, який є основною сполукою, і

[21] de Meijer E. P., Bagatta M., Carboni A. et al. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. *Genetics*. 2003. Vol. 163, Iss. 1. P. 335–346.

[22] Sarsenbaev K. N., Kozhamzharova L. S., Yessimsiitova Z. et. al. Polymorphism of DNA and accumulation of cannabinoids by the cultivated and wild hemp in Chu Valley. *World Applied Sciences Journal*. 2013. Vol. 26, Iss. 6. P. 744–749. DOI: 10.5829/idosi.wasj.2013.26.06.13381

[23] Mandolino G., Bagatta M., Carboni A. et. al. Qualitative and quantitative aspects of the inheritance of chemical phenotype in *Cannabis*. *Journal of Industrial Hemp*. 2003. Vol. 8, Iss. 2. P. 51–72. DOI: 10.1300/J237v08n02_04

[24] Mandolino G., Carboni A. Potential of marker-assisted selection in hemp genetic improvement. *Euphytica*. 2004. Vol. 140, Iss. 1. P. 107–120. DOI: 10.1007/s10681-004-4759-

низьким умістом чи відсутністю ТГК (КБГ > 0,3%, КБД < 0,5%: алелі – B_0B_0); хемотип V – коноплі з повною відсутністю канабіноїдних сполук, які майже не можна виокремити в межах чутливості хроматографа (сумарний уміст канабіноїдів < 0,2%; «нульові алелі»)[25,26].

Генетичний аналіз потомства двох варіантів гібридів, створених у результаті схрещування сорту з переважанням КБГК і сортом із переважанням ТГКК, а також сорту з переважанням КБГК із сортом із переважанням КБДК, показав, що ознака високого вмісту КБГК успадковується внаслідок дії єдиного рецесивного гена, потенційно детермінованого нефункціональним алельним варіантом гена ТГКК-синтази; «нульова» ТГКК-синтаза містить однонуклеотидний поліморфізм (SNP), який робить синтазу нездатною перетворювати КБГК у ТГКК, що й веде до значного накопичення першої сполуки[27].

Аналіз потомства створених нами реципрокних гібридів свідчить про те, що експресія ознаки вмісту канабіноїдів залежить від факторів цитоплазми (значною мірою високий вміст передається материнською лінією), тобто успадковуються вони за ядерно-цитоплазматичним типом. Слід ураховувати, що реалізація генетичної програми у фенотипі щодо синтезу канабіноїдів залежить від чинників довкілля (температури повітря, відносної вологості повітря, вологості і складу ґрунту, режиму мінерального та органічного живлення, тривалості світлового дня тощо).

Різновекторність характеру домінування ознаки високого вмісту канабіноїдів (від позитивного наддомінування до негативного наддомінування) і неперервна, кількісна мінливість ознаки вмісту канабіноїдних сполук гіпотетично може свідчити про наявність полігенів, які зумовлюють її вияв і діють за типом кумулятивної полімерії.

---

[25] Fournier G., Richez-Dumanois C., Duvezin J. et. al. Identification of a new chemotype in *Cannabis sativa*: cannabigerol-dominant plants, biogenetic and agronomic prospects. *Planta Medica*. 1987. Vol. 53, Iss. 3. P. 277–280. DOI: 10.1055/s-2006-962705

[26] 6Small E., Beckstead H. D. Common cannabinoid phenotypes in 350 stocks of *Cannabis*. *Lloydia*. 1973. Vol. 6, Iss. 2. P. 144–165.

[27] 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. P. 1–14. DOI: 10.3390/genes12020228

Незважаючи на те, що співвідношення за фенотипом ТГКК: КБДК узгоджується з простою моделлю кодомінантних алелів в одному локусі, нещодавніми дослідженнями встановлено факт наявності різноманітних послідовностей КБДК– і ТГКК-синтази, що передбачає участь багатьох зчеплених локусів для цих генів[28].

ВИСНОВКИ

Генетична детермінація ознаки вмісту канабіноїдів конопель досить складна. У проаналізованих реципрокних гібридів, створених у результаті схрещування форм із різним рівнем вираження ознак, уміст канабіноїдних сполук успадковувався полігенно за ядерно-цитоплазматичним типом. Установлено, що для створення непсихотропного селекційного матеріалу зі зниженим умістом усіх канабіноїдів доцільно проводити добір у гібридів типу відсутність / відсутність, відсутність / мінімум і відсутність / максимум, тобто за материнську форму добирати матеріал із нульовими показниками канабіноїдних сполук. У потомстві таких варіантів не лише був менший вміст цих речовин, а й у F_2 не виявлялися рослини з їх високим умістом.

АНОТАЦІЯ

Проаналізовано особливості успадкування ознаки вмісту канабіноїдів гібридами конопель F_1 і F_2, створеними у результаті схрещування рослин із різним рівнем її вираження. Установлено, що вміст канабіноїдних сполук успадковувався полігенно за ядерно-цитоплазматичним типом. Для створення непсихотропного селекційного матеріалу зі зниженим вмістом усіх канабіноїдів доцільно проводити добір у гібридів типу відсутність / відсутність, відсутність / мінімум і відсутність / максимум. За материнську форму слід добирати матеріал із нульовими показниками канабіноїдних сполук. У потомстві таких варіантів не лише був менший уміст цих речовин, а й у F_2 не виявлялися рослини з їх високим вмістом. Узагальнено літературні джерела щодо теорії генетичного контролю досліджуваної ознаки.

[28] Weiblen G. D., Wenger J. P., Craft K. J. et. al. Gene duplication and divergence affecting drug content in *Cannabis sativa*. *New Phytologist*. 2015. Vol. 208, Iss. 4. P. 1241–1250. DOI:10.1111/nph.13562

Література

1. Мигаль М.Д., Кмець І.Л., Лайко І.М. Трихоми і канабіноїди конопель. До теорії селекції ненаркотичних сортів : монографія. Суми, 2017. 228 с.

2. Rodziewicz P., Loroch S., Marczak Ł. et al. Cannabinoid synthases and osmoprotective metabolites accumulate in the exudates of *Cannabis sativa* L. glandular trichomes. *Plant Science*. 2019. Vol. 284. P. 108–116. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.04.008

3. Wagner G. J. Secreting glandular trichomes: more than just hairs. *Plant Physioligy*. 1991. Vol. 96, Iss. 3. P. 675–679. DOI: 10.1104/pp.96.3.675

4. Mahlberg P. G., Kim E. S. Accumulation of cannabinoids in glandular trichomes of *Cannabis* (*Cannabaceae*). *Journal of Industrial Hemp*. 2004. Vol. 9, Iss. 1. P. 15–36. DOI: 10.1300/J237v09n01_04

5. Morimoto S., Tanaka Y., Sasaki K. et al. Identification and characterization of cannabinoids that induce cell death through mitochondrial permeability transition in cannabis leaf cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 2007. Vol. 282, No 28. P. 20739–20751. DOI: 10.1074/jbc.M700133200

6. Shoyama Y., Sugawa C., Tanaka H. et al. Cannabinoids act as necrosis-inducing factors in *Cannabis sativa*. *Plant Signaling & Behavior*. 2009. Vol. 3, Iss. 12. P. 1111–1112. DOI: 10.4161/psb.3.12.7011

7. Mahlberg P. G., Kim E.-S. Immunochemical localization of tetrahydrocannabinol (THC) in cryofixed glandular trichomes of *Cannabis* (*Cannabaceae*). *American Journal of Botany*. 1997. Vol. 84, Iss. 3. P. 336–342. DOI: 10.2307/2446007

8. Happyana N., Agnolet S., Muntendam R. et al. Analysis of cannabinoids 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

9. Hanuš L. O., Meyer S. M., Muñoz E. et al. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. *Natural Product Report.* 2016. Vol. 33, Iss. 12. P. 1357–1392. DOI: 10.1039/C6NP00074F

10. Elsohly M. A., Slade D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences*. 2005. Vol. 78, Iss. 5. P. 539–548. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.09.011

11. Leghissa A., Hildenbrand Z., Schug K. A. A review of methods for the chemical characterization of cannabis natural products. *Journal of Separation Science*. 2018. Vol. 41, Iss. 1. P. 398–415. DOI: 10.1002/jssc.201701003

12. Radwan M. M. Wanas A. S. Chandra S. et al. Natural cannabinoids of cannabis and methods of analysis // *Cannabis sativa* L. – Botany and Biotechnology / S. Chandra et al. (eds.). Cham, 2017. P. 161–182. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6_7

13. Міщенко С. В. Теоретичні і практичні основи використання інбридингу і гібридизації в селекції конопель : дис. … докт. с.-г. наук : 06.01.05. Харків, 2020. 525 с.

14. Fellermeier M., Zenk M. H. Prenylation of olivetolate by a hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol. *FEBS Letters*. 1998. Vol. 427, Iss. 2. P. 283–285. DOI: 10.1016/S0014-5793(98)00450-5

15. Zirpel B., Kayser O., Stehle F. Elucidation of structure-function relationship of THCA and CBDA synthase from *Cannabis sativa* L. *Journal of Biotechnology*. 2018. Vol. 284. P. 17–26. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.031

16. Degenhardt F., Stehle F., Kayser O. The biosynthesis of cannabinoids // Handbook of *Cannabis* and Related Pathologies: Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment / V. R. Preedy (ed.). 2017. P. 13–23. DOI: 10.1016/B978-0-12-800756-3.00002-8

17. Taura F., Tanaya R., Sirikantaramas S. Recent advances in cannabinoid biochemistry and biotechnology. *Science Asia.* 2019. Vol. 45. P. 399–407. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2019.45.399

18. 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 and Cell Physiology.* 2005. Vol. 46, Iss. 9. P. 1578–1582. DOI: 10.1093/pcp/ pci166

19. 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

20. Morimoto S., Komatsu K., Taura F. et al. 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

21. de Meijer E. P., Bagatta M., Carboni A. et al. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. *Genetics*. 2003. Vol. 163, Iss. 1. P. 335–346.

22. Sarsenbaev K. N., Kozhamzharova L. S., Yessimsiitova Z. et. al. Polymorphism of DNA and accumulation of cannabinoids by the cultivated and wild hemp in Chu Valley. *World Applied Sciences*

Journal. 2013. Vol. 26, Iss. 6. P. 744–749. DOI: 10.5829/idosi.wasj.2013.26.06.13381

23. Mandolino G., Bagatta M., Carboni A. et. al. Qualitative and quantitative aspects of the inheritance of chemical phenotype in *Cannabis*. *Journal of Industrial Hemp*. 2003. Vol. 8, Iss. 2. P. 51–72. DOI: 10.1300/J237v08n02_04

24. Mandolino G., Carboni A. Potential of marker-assisted selection in hemp genetic improvement. *Euphytica*. 2004. Vol. 140, Iss. 1. P. 107–120. DOI: 10.1007/s10681-004-4759-6

25. Fournier G., Richez-Dumanois C., Duvezin J. et. al. Identification of a new chemotype in *Cannabis sativa*: cannabigerol-dominant plants, biogenetic and agronomic prospects. *Planta Medica*. 1987. Vol. 53, Iss. 3. P. 277–280. DOI: 10.1055/s-2006-962705

26. Small E., Beckstead H. D. Common cannabinoid phenotypes in 350 stocks of *Cannabis*. *Lloydia*. 1973. Vol. 6, Iss. 2. P. 144–165.

27. 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. P. 1–14. DOI: 10.3390/genes12020228

28. Weiblen G. D., Wenger J. P., Craft K. J. et. al. Gene duplication and divergence affecting drug content in *Cannabis sativa*. *New Phytologist.* 2015. Vol. 208, Iss. 4. P. 1241–1250. DOI:10.1111/nph.13562

Information about the authors:
Mishchenko Serhii Volodymyrovych,
Doctor of Agricultural Sciences,
Senior Researcher at the Depatment of Hemp Breeding and Seed Growing
Institute of Bast Crops of the National Academy
of Agrarian Sciences of Ukraine
45, Tereshchenkiv str., Hlukhiv, Sumy region, 41400, Ukraine

Laiko Iryna Mykhailivna,
Doctor of Agricultural Sciences,
Head of the Depatment of Hemp Breeding and Seed Growing
Institute of Bast Crops of the National Academy
of Agrarian Sciences of Ukraine
45, Tereshchenkiv str., Hlukhiv, Sumy region, 41400, Ukraine