

ШТУЧНО ІНДУКОВАНА ПОЛІПЛОЇДІЯ У ПРОМИСЛОВИХ КОНОПЕЛЬ

Міщенко С. В.

ВСТУП

У світі все більше зростає інтерес до вирощування промислових конопель (*Cannabis sativa* L.), адже ця безвідходна культура є придатною для використання в багатьох галузях промисловості, зокрема для виготовлення текстильних і кручених виробів, біокомпозитних матеріалів, складників в автомобілебудуванні, паперу, косметики, фармацевтичних препаратів, продуктів харчування, твердого і рідкого біопалива, а також для застосування у тваринництві^{1,2}. Зважаючи на виклики ринку, вітчизняна селекція промислових конопель спрямована здебільшого на підвищення волокнистості та енергетичної цінності^{3,4,5}, насінневої продуктивності та вмісту олії^{6,7,8}, створення сортів з

¹ 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

² Коноплярство: наукові здобутки і перспективи: монографія / Вировець В. Г., Лайко І. М., Мигаль М. Д. та ін.; за ред. І. О. Маринченка, С. Guo. Суми: ФОП Щербина І. В., 2018. С. 6–13.

³ Вировець В. Г., Лайко І. М., Онупрієнко Л. Г., Ситник В. П., Щербань І. І., Кириченко Г. І. Збільшення вмісту волокна в стеблах посівних конопель (*Cannabis sativa* L.) як результат цілеспрямованої комплексної дії селекції. *Селекція і насінництво*. 2008. Вип. 96. С. 195–204. DOI: 10.30835/2413-7510.2008.77226

⁴ Лайко І. М., Вировець В. Г., Кириченко Г. І., Міщенко С. В., Кмечь І. Л. Нове в прийомах розширення генетичного потенціалу конопель енергетичного напрямку використання. *Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2013. Вип. 19. С. 79–82.

⁵ Вожегова Р. А., Лавриненко Ю. О., Марченко Т. Ю., Міщенко С. В., Пілярська О. О., Василенко Є. О. Перспективні культури для біоенергетики України. *Аграрні інновації*. 2022. № 11. С. 5–15. DOI: 10.32848/agrar.innov.2022.11.1

⁶ Лайко І. М. Теоретичні і практичні основи селекції закріплення однодомності, елімінації канабіноїдів та підвищення продуктивності конопель: дис. ... доктора с.-г. наук: 06.01.05. Глухів, 2012. 423 с.

⁷ Міщенко С. В., Кириченко Г. І., Лайко І. М. Новий сорт промислових конопель ‘Артеміда’ універсального напрямку господарського використання з підвищеним умістом олії та поліпшеною якістю волокна. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2021. Т. 17, № 1. С. 43–50. DOI: 10.21498/2518-1017.17.1.2021.228208

⁸ Laiko I. M., Kobyzeva L. N., Mishchenko S. V., Kyrychenko H. I. Intra-population variability of oil content and fatty acid composition in modern hemp cultivars. *Plant Breeding and Seed Production*. 2022. Vol. 121. P. 20–27. DOI: 10.30835/2413-7510.2022.260990

підвищеним вмістом непсихотропних канабіноїдів^{9,10,11} тощо. Окрім того, на нинішньому етапі селекції конопель значна увага приділяється якісним показникам урожайності, однодомності, стабілізації тривалості вегетаційного періоду і створенню стійкого проти шкідників та збудників хвороб матеріалу¹².

Завдяки традиційним напрямам селекції наразі створено низку високопродуктивних сортів. Водночас перед селекціонерами постає завдання подальшого розширення сортового розмаїття культури конопель за інноваційними напрямками господарського використання. Для успішного розв'язання означеної проблеми виникає потреба обґрунтування і поглиблення теоретичних основ селекційної роботи із сортами, самозапиленими лініями й гетерозисними гібридами однодомних непсихотропних конопель, паралельно з розробленням методології створення генетично стабільного селекційного матеріалу в напрямі поліпшення цінних ознак. Усе це сприятиме створенню сировинної бази для ефективної організації різнопланових виробництв.

У методиці селекції та насінництва конопель використовують як класичні (масовий та індивідуальний добір, кросбридинг, інбридинг і гібридизацію)^{13,14,15} та біотехнологічні методи селекції^{16,17,18}, так і молекулярні технології (генетичні маркери для маркування селекційних

⁹ Лайко І. М., Міщенко С. В., Орлов М. М., Маринченко І. О., Шкурдода С. В., Пасічник В. В. Перспективи переорієнтації селекції конопель для створення сортів медичного напрямку використання. *Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2015. Вип. 23. С. 107–111.

¹⁰ Кириченко Г. І., Лайко І. М., Міщенко С. В. Аналіз колекційних зразків *Cannabis sativa* L. за вмістом канабіноїдних сполук і хемотипом. *Генетичні ресурси рослин*. 2019. № 25. С. 115–128. DOI: 10.36814/pgr.2019.25.09

¹¹ Mishchenko S. V., Laiko I. M., Kyrychenko H. I. Breeding of industrial hemp with a high content of cannabigerol by the case of 'Vik 2020' cultivar. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2021. Vol. 17, No 2. P. 105–112. DOI: 10.21498/2518-1017.17.2.2021.236514

¹² 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

¹³ Burczyk H., Kowalski M., Plawuszewski M. Trends and methods in hemp breeding in Poland. *J. Nat. Fibers*. 2005. Vol. 2, Iss. 1. P. 25–33. DOI: 10.1300/J395v02n01_03

¹⁴ 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.

¹⁵ Методика селекції і насінництва однодомних конопель / Лайко І. М., Вировець В. Г., Мигаль М. Д. та ін.; за ред. С. М. Ткаченка. Суми: ФОП Щербина І. В., 2021. 44 с.

¹⁶ Burczyk H., Kowalski M., Plawuszewski M. Trends and methods in hemp breeding in Poland. *J. Nat. Fibers*. 2005. Vol. 2, Iss. 1. P. 25–33. DOI: 10.1300/J395v02n01_03

¹⁷ Zwenger S. R. The biotechnology of *Cannabis sativa*. 2nd edit. New York: Extreme Publication, Inc., 2014. 249 p.

¹⁸ *Cannabis sativa* L. – Botany and Biotechnology / S. Chandra, H. Lata, M. A. ElSohly (Eds.). Cham: Springer, 2017. 474 p. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6

ознак)^{19,20}. Одним із методів селекції конопель, як і будь-якої іншої сільськогосподарської культури, є поліплоїдизація. Це питання не є новим, але воно набуває актуальності у зв'язку зі створенням покоління сортів з принципово новими ознаками і властивостями та удосконаленням низки прийомів поліплоїдизації.

У даному розділі монографії узагальнено результати досліджень, що проведені автором в Інституті луб'яних культур НААН.

1. Генетичні основи поліплоїдизації

Поліплоїдія відіграє велику роль в процесах філогенезу і визначає один із шляхів еволюції рослин. Зміна норми реакції рослин за кратного збільшення хромосом приводить до розповсюдження їх в нових умовах довкілля. Поліплоїдні рослини зустрічаються у всіх районах суходолу, але їх кількість є різною. Найбільша частка поліплоїдів спостерігається в місцях з несприятливими кліматичними умовами, а головним зовнішнім фактором, що сприяє виникненню поліплоїдії, є наявність нових екологічних ніш²¹.

Поліплоїдні організми часто виявляють підвищену життєздатність і в деяких випадках перевершують своїх диплоїдних родичів за низкою показників. Ця чудова перевага поліплоїдів була використана багатьма селекціонерами, які індукували поліплоїдію та/або використовували природні поліплоїди для отримання більш досконалих сортів рослин. Найважливішим значенням поліплоїдії для селекції рослин є збільшення органів рослини, буферизація шкідливих мутацій, підвищена гетерозиготність і прояв гетерозису (гібридної сили). У результаті були створені сорти з більш високим рівнем врожайності, покращеною якістю продукції та підвищеною стійкістю як до біотичних, так і абіотичних стресів. У деяких випадках, коли схрещування між двома видами неможливе через відмінності в рівні плоїдності, поліплоїди можуть використовуватися як «міст» для переносу генів між ними. Крім того, поліплоїдія часто призводить до зниження фертильності через мейотичні помилки, що дозволяє отримувати сорти, які не утворюють насіння. З іншого боку, подвоєння геному у новоствореного стерильного гібриду дозволяє відновити його фертильність²².

¹⁹ Brian C., Dong Z., McKay J. K. Hemp genetics and genomics. *Industrial Hemp as a Modern Commodity Crop* / D. W. Williams (Ed.). Madison, 2019. P. 94–108. DOI: 10.2134/industrialhemp.c6

²⁰ Petit J., Salentijn E. M. J., Paulo M.-J., Denneboom C., van Loo E. N., Trindade, L. M. Elucidating the genetic architecture of fiber quality in hemp (*Cannabis sativa* L.) using a genome-wide association study. *Front. Genet.* 2020. Vol. 11. 566314. DOI: 10.3389/fgene.2020.566314

²¹ Шевцов І. А. Генетичні принципи покращення автополіплоїдних рослин. Київ: Наукова думка, 1976. 216 с.

²² Sattler M. C., Carvalho C. R., Clarindo W. R. The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta.* 2016. Vol. 243. P. 281–296. DOI: 10.1007/s00425-015-2450-x

За поліплоїдизації з селекційною метою найбільш вдалим є види, які в процесі еволюції ще не досягли високого ступеня плідності. Кожен із рівнів плідності характеризується специфічними змінами органів і всі ознаки мають пороговий рівень плідності, за якого найбільш повно реалізуються потенційні можливості генотипу. Найбільша практична цінність зазвичай досягається при переводі рослин на найближчий рівень плідності. Такою є тетраплоїдна форма, а в тих випадках, коли вдається отримувати гібриди між індукованими тетраплоїдами та вихідними диплоїдами, – триплоїдна форма. Стрибокподібне зростання ступеня плідності проходить паралельно з послабленням потужності рослин, депресією та різким падінням плодovitості²³.

Додатковий набір хромосом може бути отриманий в результаті внутрішньовидової дуплікації геному (автополіплоїдія) або гібридизації геномів різних видів і подвоєння хромосом (алополіплоїдія). Особливими формами поліплоїдії є автоалополіплоїдія та сегментарна алополіплоїдія. Поліплоїдія виникає в результаті двох основних процесів: порушень мейотичного поділу, що спонтанно виникають; індукованого хімічними агентами порушення мітозу. Перший включає індукцію та злиття нередукованих гамет, що призводить до утворення триплоїдів та тетраплоїдів. У другому процесі використовуються антими́тотики, які руйнують клітинні мікротрубочки та запобігають руху сестринських хроматид хромосоми під час анафази. Експозиція та концентрація антими́тотичних речовин, а також вид, сорт, генотип та тип тканини впливають на ефективність дуплікації геному. Поліплоїди, як правило, відрізняються від диплоїдів збільшеними розмірами клітин та підвищеним вмістом вторинних метаболітів. Дуплікація геному викликає кілька змін на епігенетичному рівні, що призводить до зміни експресії генів. Поліплоїдизація використовується в селекції рослин для подолання нежиттєздатності та безпліддя міжвидових гібридів, отримання безнасінних поліплоїдних сортів та підвищення стійкості й/або толерантності до біотичних і абіотичних чинників²⁴.

Розщеплення диплоїдних рослин за будь-якою парою алелів приводить до утворення трьох генотипів, поліплоїди ж мають більш складний характер розщеплення (згідно положень формальної генетики), наявність, наприклад, чотирьох гомологічних хромосом приводить до збільшення можливих поєднань рецесивних і домінантних алелів – виникає п'ять різних генотипів. Таке різне поєднання

²³ Шевцов І. А. Генетичні принципи покращення автополіплоїдних рослин. Київ: Наукова думка, 1976. 216 с.

²⁴ Trojak-Goluch A., Kawka-Lipińska M., Wielgusz K., Praczyk M. Polyploidy in industrial crops: applications and perspectives in plant breeding. *Agronomy*. 2021. Vol. 11, Iss. 12. 2574. DOI: 10.3390/agronomy11122574

домінантних і рецесивних алелів викликає різний рівень експресії ознак і появу нових фенотипів²⁵.

Поліплоїдні геноми можуть бути більш схильними до таких структурних змін, як втрата генних копій або послідовностей (варіація наявності-відсутності) та наявність генів або послідовностей у кількох копіях (варіація кількості копій). Хоча два основних типи геномних структурних варіацій, які зазвичай достовірно ідентифікують, – це варіація наявності-відсутності та варіація кількості копій, було висунуте припущення, що гомологічні обміни становлять третю основну форму геномних структурних варіацій у поліплоїдів²⁶. Гомологічні обміни, як відомо, дуже поширені серед поліплоїдів і передбачають заміну одного геномного сегмента аналогічною копією з іншого генома або дубльованої спадкової області. Виявлення всіх видів геномних структурних варіацій є складним завданням, але останні досягнення в молекулярній біології дозволяють запропонувати потенційні стратегії, які допомагають ідентифікувати структурні варіанти навіть у складних поліплоїдних геномах. Відомо, що всі три основні типи геномної структурної варіації (наявність-відсутність, кількість копій і гомологічний обмін) впливають на фенотипи сільськогосподарських рослин, включаючи настання генеративної фази, морозостійкість, інші адаптивні й агрономічні ознаки. Геномна структурна мінливість є дуже важливою для генетичного покращення поліплоїдних культур²⁷.

Для успішного використання їх в селекції слід враховувати основні принципи, які випливають з генетичних особливостей поліплоїдів, зокрема: 1) залучення до поліплоїдизації зразків різного генетичного походження з метою добору цінного вихідного матеріалу; 2) встановлення найбільш ефективного рівня плоідності для певного виду чи сільськогосподарської культури; 3) включення поліплоїдів у гібридизацію, оскільки це додаткові можливості для отримання ефекту гетерозису; 4) розробка прийомів підвищення рівня плоидовитості поліплоїдних рослин; 5) розробка специфічних прийомів вирощування з метою реалізації їх генетичного потенціалу²⁸. Природні поліпоїди, отримані мейотичним шляхом, є більш високогетерозиготними, а штучні поліпоїди, отримані мітотичним шляхом, є більш

²⁵ Шевцов І. А. Генетичні принципи покращення автополіплоїдних рослин. Київ: Наукова думка, 1976. 216 с.

²⁶ Schiessl S.-V., Kathe E., Ihien E., Chawla H. S., Mason A. S. The role of genomic structural variation in the genetic improvement of polyploid crops. *The Crop Journal*. 2019. Vol. 7, Iss. 2. P. 127–140. DOI: 10.1016/j.cj.2018.07.006

²⁷ Schiessl S.-V., Kathe E., Ihien E., Chawla H. S., Mason A. S. The role of genomic structural variation in the genetic improvement of polyploid crops. *The Crop Journal*. 2019. Vol. 7, Iss. 2. P. 127–140. DOI: 10.1016/j.cj.2018.07.006

²⁸ Шевцов І. А. Генетичні принципи покращення автополіплоїдних рослин. Київ: Наукова думка, 1976. 216 с.

високого мезитоготними, тому найбільш ефективним напрямом покращення експериментальних поліплоїдів слід вважати гібридизацію генетично різноманітного матеріалу у поєднанні з добром високоплодовитих форм²⁹. В природі та у сільськогосподарському виробництві поширена диплоїдна форма конопель, лише нещодавно було встановлено, що рідко можуть зустрічатися й популяції, представлені тетраплоїдними рослинами конопель, особливо в стресових умовах середовища³⁰.

2. Методика отримання поліплоїдів конопель

Існують наступні механізми реалізації поліплоїдизації:

- 1) мітотична поліплоїдизація, в основі якої лежить подвоєння хромосом у клітинах соматичної тканини;
- 2) мейотична поліплоїдизація, під час якої утворюється диплоїдна (2n) гамета³¹.

Поліплоїдія рослин може бути штучно індукована двома шляхами за умов обробки антимітотичними речовинами:

- 1) насіння, паростків, верхівок пагонів *in vivo*;
- 2) асептичних експлантів в умовах *in vitro*.

Важливим параметром при доборі методу та матеріалу для обробки є отримання одноманітного генетично стабільного матеріалу в наступних поколіннях, тому використання насіння в більшості випадків не відповідає даному критерію за рахунок розчеплення за генотипом, проте за умов використання культури *in vitro* навіть після багатьох циклів мікроклонального розмноження спостерігається генетична та біохімічна стабільність отриманих клонів. Якщо кінцевою метою поліплоїдизації є покращення культури або створення нових високопродуктивних поліплоїдних форм, використовують саме вегетативно розмножені клони^{32,33}.

При проведенні поліплоїдизації в умовах *in vivo* використовують насіння або молоді пагони рослин, які обробляють антимітотичним агентом, однак цей метод є досить довготривалим, бо фактично лише після цвітіння, запилення, формування насіння та його проростання

²⁹ Там само.

³⁰ Sharma V., Srivastava D. K., Gupta R. C., Singh B. Abnormal meiosis in tetraploid (4x) *Cannabis sativa* (L.) from Lahaul-Spiti (Cold Desert Higher Altitude Himalayas) – A neglected but important herb. *J. Biol. Chem. Chron.* 2015. Vol. 2, Iss. 1. P. 38–42.

³¹ Ramsey J., Schemske D. W. Pathways, mechanisms, and rates of polyploidy formation in flowering plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1998. Vol. 29. P. 467–501.

³² Talebi S. F., Saharkhiz M. J., Kermani M. J., Sharafi Y., Fard F. R. Effect of different antimetabolic agents on polyploid induction of anise hyssop (*Agastache foeniculum* L.). *Caryologia*. 2017. Vol. 70, Iss. 2. P. 184-193. DOI: 10.1080/00087114.2017.1318502

³³ Мельничук О. В. Одержання поліплоїдних ліній міскантусу гігантського (*Miscanthus × giganteus* Greef et Deu.) в умовах *in vitro* з використанням антимітотичних сполук динітроанлінового ряду: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.20. Київ, 2020. 176 с.

отримують нові поліплоїдні форми, які вже можна використовувати в селекції. Прискорюється даний процес шляхом використання дигаплоїдів, в основі якого лежить штучно індукований андрогенез (культура пиляків) *in vitro* з наступним кратним подвоєння хромосом за допомогою мітотичних речовин. У цьому випадку існує можливість проводити міжвидові схрещування.

З використанням культури *in vitro* було отримано дигаплоїди або поліпоїди багатьох культур: буряка цукрового^{34,35} та кормового³⁶, стевії³⁷, міскантусу^{38,39} та ін.

Поліплоїди заслуговують на увагу саме завдяки своїм властивостям та широким спектром застосування, починаючи від використання в селекційних програмах для створення нових генотипів та покращення існуючих рослин і до використання у синтезі продуктів метаболізму як у відкритому ґрунті, так і в умовах *in vitro*. Найчастіше використовують тетраплоїдні форми. У свою чергу поліплоїдизація стерильних триплоїдних форм дозволяє отримати гексаплоїдні рослини, здатні продукувати життєздатне насіння, що є надзвичайно важливим для розширення генетичного різноманіття. На сучасному етапі розвитку науки використання методів *in vitro* дозволяє швидко і якісно провести обробку матеріалу антимітотичною речовиною і надає можливість швидко отримати велику кількість клонів отриманих поліплоїдів⁴⁰.

Антимітотичні речовини поділяють на:

1) класичні, такі як колхіцин (є дуже високотоксичною для рослин сполукою, часто викликає стерильність, порушення росту і розвитку в онтогенезі, анеуплоїдію та генні мутації);

³⁴ Чугункова Т. В., Лялько І. І., Дубровна О. В. Цитогенетичні особливості тетраплоїдних запилювачів цукрових буряків. *Цитология і генетика*. 2006. Т. 40, № 1. С. 37–41.

³⁵ Рябовол Л. О. Диплоїдизація рослинного матеріалу буряка цукрового у культурі *in vitro* під впливом колхіцину до живильного середовища. *Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва*. 2010. Вип. 73, Ч. 1: Агроніомія. С. 127–133.

³⁶ Роїк М. В., Редько В. І., Бех Н. С., Недяк Т. М., Білоус Н. В., Войтюк Ю. В. Отримання тетраплоїдів кормових буряків методом поліплоїдизації у культурі *in vitro*. *Цукрові буряки*. 2010. № 2. С. 6–7.

³⁷ Стефанюк В. Й. Поліплоїдизація стевії в культурі *in vitro*. *Наукові доповіді НУБіП*. 2016. Вип. 6 (63). DOI: 10.31548/dopovidi2016.06.013

³⁸ Мельничук О. В., Ожерєдов С. П., Рахметов Д. Б., Рахметова С. О., Баєр О. О., Шиша О. М., Семець А. І., Блюм Я. В. Induction of polyploidy in giant miscanthus (*Miscanthus sinensis* за допомогою динітроанілінів з низькою фітотоксичністю. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2020. Т. 26. С. 228–233. DOI: 10.7124/FEEO.v26.1271

³⁹ Melnychuk O. V., Ozheredov S. P., Rakhmetov D. B., Shysha O. M., Rakhmetova S. O., Yemets A. I., Blume Ya. B. Induction of polyploidy in giant miscanthus (*Miscanthus* × *Giganteus* Greef Et Deu.). *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. 2020. Vol. 74, Iss. 3. P. 206–214. DOI: 10.2478/prolas-2020-0032

⁴⁰ Мельничук О. В. Одержання поліплоїдних ліній міскантусу гігантського (*Miscanthus* × *giganteus* Greef et Deu.) в умовах *in vitro* з використанням антимітотичних сполук динітроанілінового ряду: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.20. Київ, 2020. 176 с.

2) нові, до яких можна віднести такі речовини, як динітроаніліни (трифлюоралін, оризалін, еталфлюоралін, пендиметалін, бенфлюоралін та ін.) та фосфоротіоамідати (аміпрофосфометил, кремарт та ін.)⁴¹.

Тетраплоїдні рослини конопель у відомих дослідженнях зазвичай отримані під дією колхіцину у різних концентраціях, різні фази розвитку та за різних способів обробки. Для підтвердження рівня плоїдності нині найчастіше використовують аналіз методом проточної цитометрії, все рідше – анатомічний аналіз, який полягає в безпосередньому підрахунку кількості хромосом в ядрах соматичних клітин.

Прийоми обробки колхіцином рослин конопель: 1) обробка насіння (сухого, набувнявілого); 2) крапельне нанесення на апікальні меристеми; 3) занурювання пагонів у розчин; 4) ін'єкції в стебло (табл. 1)⁴².

Таблиця 1

**Прийоми обробки колхіцином рослин конопель
з метою отримання тетраплоїдів та їх ефективність**

Приєм обробки	Орган рослини; фаза розвитку	Концентрація колхіцину; експозиція	Частка (вихід) тетраплоїдів, %
Замочування	насіння	0,3%; 12 год	8,3
Крапельне нанесення	апикальні меристеми пагонів; фаза першої пари листків	0,5–0,7%; щоденно	2,8–10,1
Занурювання	проростки; третя доба розвитку	0,5%; 2 год	11,6
	пагони; фаза трьох пар листків	0,1%; 24 год	24,1
		0,15%; 24 год	15,8
Ін'єкції	стебло; фаза трьох, п'яти листків, перед бутонізацією	0,3%, 0,5%, 0,7%; одноразово	–

Примітка. Узагальнено з праці М. М. Сидоренко⁴³.

⁴¹ Мельничук О. В. Одерження поліплоїдних ліній міскантусу гігантського (*Miscanthus × giganteus* Greef et Deu.) в умовах *in vitro* з використанням антимітотичних сполук динітроанілінового ряду: дис. канд. біол. наук: 03.00.20. Київ, 2020. 176 с.

⁴² Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁴³ Там само.

Найбільший вихід тетраплоїдів (24,1% і більше) був отриманий за обробки рослин у фазу трьох пар листків розчином колхіцину концентрацією 0,1% з експозицією 24 год⁴⁴.

Відомі й інші дослідження, у яких обробляли колхіцином проростки з насіння концентрацією 0,05% та 0,02% протягом 12 год і довше. Частка тетраплоїдів варіювалася від 26% до 64%. Через 10 днів спостерігали відставання пагонів у рості – вони були значно коротші контрольних (≤ 1 см), у проростків, що вижили, були потовщені сім'ядолі і гіпокотилі. Такий прояв морфологічних ознак вказував на потенційну зміну плідності⁴⁵.

В інших дослідженнях обробляли верхівки пагонів розчином колхіцину концентрацією 0,1 та 0,2% протягом 24 або 48 годин. Найбільша частка тетраплоїдів (43,33%) і міксоплоїдів (13,33%) була отримана за обробки 0,2% мас./об. протягом 24 год. Колхіцин з концентрацією 0,2% і експозицією 48 год був більш руйнівним, ніж за експозицією 24 год, тобто частка тетраплоїдних рослин і виживання знижувалися зі збільшенням часу обробки^{46,47}.

Інша сполука, яку використовують для отримання поліплоїдних рослин конопель, – оризалін. Найбільший вихід тетраплоїдів встановлено за обробки пазушних бруньок оризаліном концентрацією 20–40 мкМ протягом 24 год⁴⁸.

Окрім обробки антимітотичними агентами рослин конопель *in vivo*, інший можливий (і більш ефективний) спосіб отримання поліплоїдів – дія інгібіторами мітотичного поділу на експланти в умовах *in vitro*.

Поліплоїдизація *in vitro* здійснюється двома шляхами:

1) непрямым морфогенезом: антимітотичні речовини додають у гормональне середовище для індукції калусогенезу і органогенезу, культивуючи на ньому експланти певний проміжок часу;

2) прямим морфогенезом: антимітотичні речовини додають у середовище, де культивують меристеми або пагони певний проміжок часу.

⁴⁴ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁴⁵ Kurtz L. E., Brand M. H., Lubell-Brand J. D. Production of tetraploid and triploid hemp. *HortScience*. 2020. Vol. 55, Iss. 10. P. 1703–1707. DOI: 10.21273/HORTSCI15303-20

⁴⁶ Bagheri M., Mansouri H. Effect of induced polyploidy on some biochemical parameters in *Cannabis sativa* L. *Appl Biochem Biotechnol*. 2015. Vol. 175, Iss. 5. P. 2366–2375. DOI: 10.1007/s12010-014-1435-8

⁴⁷ Mansouri H., Bagheri M. Induction of polyploidy and its effect on *Cannabis sativa* L. *Cannabis sativa* L. – *Botany and Biotechnology* / eds: S. Chandra, H. Lata, M. ElSohly. Cham: Springer, 2017. 3. 365–383. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6_17

⁴⁸ Parsons J. L., Martin S. L., James T., Golenia G., Boudko E. A., Hepworth S. R. Polyploidization for the genetic improvement of *Cannabis sativa*. *Front. Plant Sci*. 2019. Vol. 10. 476. DOI: 10.3389/fpls.2019.00476

Культивування апікальних та латеральних меристем промислових конопель (прямий морфогенез) на безгормональному живильному середовищі Мурасіге і Скуга, доповненому 0,125 мг/л колхіцину, протягом 72 год з подальшим пасажем експлантів на середовище Мурасіге і Скуга, доповнене 0,4 мг/л індол-3-оцтової кислоти для індукції ризогенезу, дозволяло отримувати 68,3% (41 з 60) тетраплоїдних рослин.

Цікавим є той факт, що у гіпокотилів і сім'ядолях конопель виявлено полісоматію, в умовах *in vitro* були регенеровані як диплоїдні (> 80%), так і міксоплоїдні (з диплоїдними і тетраплоїдними клітинами) рослини; той факт, що значна частка рослин-регенерантів є міксоплоїдами, може забезпечити альтернативний шлях отримання поліплоїдів у конопель – з гіпокотилів в культурі *in vitro* без використання хімічних інгібіторів веретена поділу⁴⁹.

3. Вплив поліплоїдії на біологічні ознаки конопель (морфологічні, анатомічні, біохімічні та статеві)

Штучне переведення конопель з диплоїдності на тетраплоїдність супроводжується порівняно з вихідними формами істотними змінами ознак, що стосується анатомічної та морфологічної будови вегетативних і генеративних органів, протікання біохімічних процесів в рослинному організмі. При цьому збільшуються розміри клітин, подвоюється кількість хромосом ($2x = 40$)⁵⁰.

Листковий індекс та висота тетраплоїдних рослин менші, порівняно з диплоїдними рослинами⁵¹. За даними інших авторів⁵² площа листків може бути більшою у тетраплоїдів, вони утворюють більш крупні, темнозелені, з короткими черешками листки і більшою товщиною листкової пластинки.

Розміри продихів на епідермісі листків більші у тетраплоїдних рослин, порівняно з диплоїдними (довжина 47,2, ширина 36,4 і довжина 66,6, ширина 47,3 мкм відповідно), але тетраплоїдні рослини мали

⁴⁹ Galán-Ávila A., García-Fortea E., Prohens J., Herraiz F. J. Development of a direct *in vitro* plant regeneration protocol from *Cannabis sativa* L. seedling explants: developmental morphology of shoot regeneration and ploidy level of regenerated plants. *Front. Plant Sci.* 2020. Vol. 11. 645. DOI: 10.3389/fpls.2020.00645

⁵⁰ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁵¹ Mansouri H., Bagheri M. Induction of polyploidy and its effect on *Cannabis sativa* L. *Cannabis sativa* L. – *Botany and Biotechnology* / eds: S. Chandra, H. Lata, M. ElSohly. Cham: Springer, 2017. З. 365–383. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6_17

⁵² Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

приблизно вдвічі меншу щільність продохів. Як в епідермальних клітинах, так і в замикаючих клітинах продохів, у тетраплоїдів міститься більш ніж у 1,5 рази більше хлоропластів (9,0 і 8,3, порівняно з 13,8 і 13,3 шт.)⁵³. Поряд з анатомічним дослідженням (підрахунком кількості хромосом), проточною цитометрією (методом рахування, аналізування та сортування мікроскопічних частинок, завислих у потоці рідини, із застосуванням сигналів світлорозсіювання та флюоресценції), можливим є використання параметрів продохів як ефективного, швидкого та зручного прийому для виявлення тетраплоїдних рослин⁵⁴. Розмір продохів у триплоїдних рослин конопель займає проміжне значення між тетра- і диплоїдними батьківськими формами⁵⁵. За нашими даними непрямым методом для ідентифікації тетраплоїдних рослин є коефіцієнт відношення «довжина листка: ширина листка», яке у тетраплоїдних конопель складало від 4,31 до 5,01, а у диплоїдних – від 7,03 до 7,82. При цьому частки складної листкової пластинки у тетраплоїдів коротші й ширші, а у диплоїдів – довші і вужчі, відношення довжини до ширини зазвичай не перевищувало п'яти ($r = 0,93$ між кількістю тетраплоїдних рослин, виявлених таким прийомом і анатомічним методом).

Також деякі відмінності спостерігалися в анатомічній будові поперечного перерізу стебла рослин конопель різної плоїдності з описово-структурної точки зору. Так, кількість елементарних волокон у нижній і середній частині стебла у тетраплоїдних рослин є меншою, ніж у диплоїдних, але це компенсується у тетраплоїдів за рахунок збільшення розмірів клітин на поперечному зрізі, внаслідок чого обидві форми конопель за потужністю (товщиною) шарів первинного волокна майже не відрізняються. За розмірами шару вторинного волокна тетраплоїди поступаються своїм вихідним формам. У нижній частині стебла кількість вторинних елементарних волокон у диплоїдних конопель у 2–2,5, а в середній і верхній у 2,5–3 рази більша за тетраплоїдні коноплі, однак загальновідомо, що якість волокна значною мірою залежить від частки в ньому саме первинних волокон, які характеризуються кращими прядивними властивостями. Виходячи з

⁵³ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁵⁴ Mansouri H., Bagheri M. Induction of polyploidy and its effect on *Cannabis sativa* L. *Cannabis sativa* L. – Botany and Biotechnology / eds: S. Chandra, H. Lata, M. ElSohly. Cham: Springer, 2017. 3. 365–383. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6_17

⁵⁵ Kurtz L. E., Brand M. H., Lubell-Brand J. D. Production of tetraploid and triploid hemp. *HortScience*. 2020. Vol. 55, Iss. 10. P. 1703–1707. DOI: 10.21273/HORTSCI15303-20

цього, тенденція до зменшення частки вторинних волокон в стеблі тетраплоїдів є позитивною⁵⁶.

У тетраплоїдних конопель, порівняно з вихідною диплоїдною формою, зростають розміри пилкових зерен (23,1 і 28,0 мкм відповідно), та кількість проросткових пор (3,06 і 4,23 шт. відповідно)⁵⁷. Дослідження показали, що кратне збільшення плоїдності істотно відображається на процесі мейозу і подальших стадіях мікроспорогенезу. Якщо диплоїдні рослини характеризуються переважно правильною, бівалентною кон'югацією хромосом в профазі I, то у тетраплоїдів поряд з бівалентами утворюються тетраваленти і триваленти, а в певній частини хромосом взагалі не відбувається кон'югація, вони залишаються в унівалентному стані. На 100 материнських клітин пилку тетраплоїди мають лише близько 30 клітин з повністю бівалентною кон'югацією. У середньому на одну материнську клітину пилку припадає 18,35 бівалентів, 0,44 тетравалентів, 0,21 тривалентів і 0,91 унівалентів. У тетраплоїдних однодомних конопель під час мейозу спостерігаються різноманітні відхилення від норми, які є однією з причин зниженої фертильності пилку. Так, фертильність пилку тетраплоїдів у середньому складає 74,7, диплоїдів – 86,1%, а життєздатність його за пророщування на штучному живильному середовищі, – 40,0–42,0 і 54,4–59,5% відповідно⁵⁸.

У результаті дії колхцину у більшості рослин конопель помітних відхилень у формуванні та диференціації квіток не спостерігалось, однак у 21% рослин було відмічено часткову або повну елімінацію чоловічих квіток, що свідчить про більшу схильність чоловічої статі, порівняно з жіночою, до токсичного впливу даного алкалоїду. Чоловічі та жіночі квітки загалом, а пиляки та насіння тетраплоїдів зокрема, за розмірами помітно перевищують диплоїди⁵⁹. За іншими даними у поліплоїдних рослин конопель все ж таки спостерігаються аномалії квіток. У чоловічих квіток формується шість пиляків замість п'яти, утворюються двостатеві квітки з різним ступенем недорозвиненості генеративних органів обох статей. Такі квітки рідко утворюють життєздатне насіння⁶⁰. Разом з тим подвоєння хромосомного набору істотно впливало на співвідношення статевих типів (табл. 2).

⁵⁶ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁵⁷ Там само.

⁵⁸ Там само.

⁵⁹ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁶⁰ Мигаль М. Д. Експериментальна зміна статі конопель: монографія. Суми, 2004. 248 с.

Таблиця 2

**Статева структура різноплідних форм однодомних конопель
сорту Миколайчик**

Форма	Часта статевих типів, % (середня, Min–Max)						
	матірка однодомних конопель	однодомна фемінізована матірка	справжні однодомні фемінізовані рослини	однодомна фемінізована плоскінь	фемінізована плоскінь	однодомні фемінізовані рослини	плоскінь однодомних конопель
Диплоїдна	0	76,2	16,7	4,7	2,4	0	0
Тетраплоїдна	0	94,9 80,0–100,0	4,4 0–20,0	0,7 0–5,5	0	0	0

Примітка. Оригінальні дані.

Порівняно з вихідною диплоїдною формою сорту Миколайчик, у тетраплоїдів зросла частка основного статевого типу, продуктивного за насінням і стабільного за ознакою однодомності, – однодомної фемінізованої матірки (94,9, порівняно з 76,2%), зменшилась частка справжніх однодомних фемінізованих рослин (4,4, порівняно з 16,7%), у багато разів зменшилась кількість небажаного статевого типу, малопродуктивного за насінням, – однодомної фемінізованої плосконі (0,7, порівняно з 4,7%), нівелювалась фемінізована плоскінь, компактне суцвіття якої складається виключно з чоловічих квіток. Прямий дестабілізатор однодомності – плоскінь однодомних конопель – не з'явилася в результаті подвоєння диплоїдного набору хромосом. Позитивним для селекції є той факт, що 50% сімей (потомств поліплоїдних рослин) склалися виключно з рослин однодомної фемінізованої матірки, а мінімальна її частка становила 80,0%, тобто більше, ніж у вихідної форми.

Генетичний контроль статі у тетраплоїдних конопель досить складний. Фенотипові вираження ознак статі залежить не тільки від співвідношення X та Y-хромосом у клітинах, але й від взаємодії генів цих хромосом з аутосомними факторами. Також достовірно встановлено, що визначення статі у тетраплоїдів певною мірою визначається мутаціями генів статевих хромосом. Даний факт підтверджується наявністю статевих мозаїк. Відхилення від нормального проходження динаміки цвітіння та місця розташування чоловічих і жіночих квіток у суцвітті,

крім того, свідчить про порушення фізіолого-біохімічних процесів, пов'язаних зі змінами фітогормонального балансу, тобто порушуються функції аутосомних факторів AG. Описаний механізм контролю насправді є ще складнішим, бо в популяції вищеплюються рослини іншої плоідності⁶¹.

Маса тисячі насінин у середньому складає 24–25, порівняно з 17–18 г у вихідній диплоідній форми, але таке насіння, не зважаючи на крупність, характеризується низькою енергією проростання, лабораторною і польовою схожістю. Це пов'язано з тим, що збільшення маси плодів в результаті поліплоїдизації відбувається більшою мірою за рахунок збільшення масової частки оболонки, а не ядра. У середньому частка оболонки складає у диплоїдних конопель 33,6, а тетраплоїдних – 39,3%. Підвищення масової частки оболонки насінини мало вплив на вміст олії в насінні, який у середньому склав 30,4, порівняно з 35,2% у диплоїдній форми цього ж сорту. Кількість сформованого насіння на рослині теж знижується. Позитивним є те, що тетраплоїдні зразки більш стійкі до осипання насіння. Кількість втраченого насіння у диплоїдній форми через 40 діб після настання фази біологічної стиглості склало 40,1, а тетраплоїдній – 10,2%. Підвищена стійкість до осипання насіння у цьому випадку обумовлена більш компактною будовою суцвіть і наявністю потужно розвинених оцвітин. Сходи тетраплоїдних рослин з'являються на декілька днів пізніше, ніж диплоїдних⁶². Вважаємо, що це також може бути однією з непрямих ознак визначення рослин з подвоєним набором хромосом, наприклад на початкових етапах селекційного добору. Уповільнено проходять у них ростові процеси та настають фенофази протягом онтогенезу, у результаті чого тривалість вегетаційного періоду подовжується на 6–12 діб⁶³.

Кількість загального хлорофілу та каротиноїдів була практично однаковою як у тетраплоїдних, так і у диплоїдних рослин⁶⁴. Результати біохімічних первинних та вторинних метаболітів аналізів показали, що вміст розчинних цукрів, загального білка та флавоноїдів значно збільшився у міксоплоїдних рослин, порівняно з тетраплоїдними та диплоїдними рослинами. У свою чергу, тетраплоїдні рослини мали

⁶¹ Мигаль М. Д. Експериментальна зміна статі конопель: монографія. Суми, 2004. 248 с.

⁶² Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁶³ Там само.

⁶⁴ Mansouri H., Bagheri M. Induction of polyploidy and its effect on *Cannabis sativa* L. *Cannabis sativa* L. – Botany and Biotechnology / eds: S. Chandra, H. Lata, M. ElSohly. Cham: Springer, 2017. 3. 365–383. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6_17

більшу кількість крохмалю, загального білка і флавоноїдів, порівняно з контрольними рослинами^{65,66}.

У потомстві експериментально отриманих тетраплоїдів однодомних конопель з'являються анеуплоїди, які здебільшого низькорослі і мають низку порушень органогенезу: дихотомічне галуження стебла, карликовість, відмирання верхівки стебла, аномальна будова і розміщення листків, надмірна гіллястість, жіноча і чоловіча стерильність тощо⁶⁷.

4. Вплив поліплоїдії на селекційні ознаки конопель та вміст канабіноїдів

У відомих дослідженнях описано, що тетраплоїдні коноплі дещо поступаються диплоїдним за урожайністю стебел і волокна (у середньому на 9–10%); за виходом волокна дані форми значних відмінностей не мають (26,0 у тетраплоїдній і 25,6% у диплоїдній). Якісні показники волокна (вміст довгого волокна, довжина жмені, розщепленість, міцність, гнучкість, номер) істотно не відрізняються у різноплоїдних форм, коливаються в бік зменшення чи збільшення, залежно від року урожаю. Найбільш істотно поліплоїдизація вплинула на насінневу продуктивність конопель, знизивши її на 40–45%. Основними причинами прояву цієї закономірності, особливо в ранніх поколіннях, є порушення в проходженні споро– і гаметогенезу, що викликає стерильність гамет або їх знижену життєздатність, а також вищеплення анеуплоїдів. Однак, такі селекційні ознаки, як маса стебла і насіння з рослини, вміст волокна піддаються поліпшуючому добору⁶⁸.

У своїх дослідженнях ми використали сучасний сорт промислових конопель Миколайчик. Це сорт нового покоління, який істотно відрізняється від минулих сортів. По-перше, він значно скоростигліший за відомі аналоги, низькоросліший, по-друге, характеризується стабільною ознакою однодомністю і поліпшений за насінною продуктивністю та олійністю, тому реакція його на поліплоїдизацію виявилась дещо іншою. За t-критерієм Стьюдента істотної різниці між тетраплоїдною і диплоїдною формою сорту Миколайчик не було за ознаками висоти рослин (відповідно 237,8 і 242,0 см, або різниця

⁶⁵ Там само.

⁶⁶ Bagheri M., Mansouri H. Effect of induced polyploidy on some biochemical parameters in *Cannabis sativa* L. *Appl Biochem Biotechnol.* 2015. Vol. 175, Iss. 5. P. 2366–2375. DOI: 10.1007/s12010-014-1435-8

⁶⁷ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁶⁸ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

становить $-1,7\%$), технічної довжини стебла (183,3 і 184,7 см, або $-0,8\%$), маси стебла (20,77 і 17,72 г, або $+17,2\%$) і маси насіння з рослини (6,14 і 6,42 г, або $-4,4\%$). У той же час за t-критерієм Стьюдента встановлено істотне перевищення тетраплоїдної форми конопель над диплоїдною за ознаками діаметру стебла на середині технічної довжини (відповідно 9,56 і 8,38 мм, або різниця становить $+14,1\%$, $P < 0,05$), маси волокна (6,40 і 5,04 г, або $+27,0\%$, $P < 0,01$), вмісту волокна (30,82 і 28,44%, або $+8,4\%$, $P < 0,05$) і маси тисячі насінин (20,2 і 15,5 г, або $+30,3\%$, $P < 0,01$) (табл. 3).

Отже, нашими дослідженнями вперше встановлено лише тенденцію до зниження висоти тетраплоїдних рослин, технічної довжини і маси стебла за середніми даними, разом з тим виявлено збільшення діаметру стебла і формування більш потужного шару волокна, тому мав місце високий рівень вираження ознак маси волокна і вмісту волокна, що дозволяє отримувати досить високий урожай волокнопродукції. Вперше встановлено неістотне зниження насінневої продуктивності, що теж додає ваги використанню тетраплоїдів як вихідного селекційного матеріалу.

Таблиця 3

**Рівень прояву селекційних ознак у тетраплоїдної форми
однодомних конопель сорту Миколайчик, порівняно з диплоїдною**

Ознака							
висота рослин	технічна довжина стебла	діаметр стебла	маса стебла	маса волокна	вміст волокна	маса насіння	маса тисячі насінин
Відхилення (+ або -) до диплоїдної форми, %							
-1,7	-0,8	+14,1	+17,2	+27,0	+8,4	-4,4	+30,3
Частка сімей, що перевищують показники диплоїдної форми, %							
40	60	100	100	100	100	20	100
Частка сімей, що поступаються показникам диплоїдної форми, %							
60	40	0	0	0	0	80	0

Примітка. Оригінальні дані.

Подолання збільшеної частки оболонки в насінні можна здійснити методом поліпшуючого добору, оскільки плоди конопель досить мінливі за цією ознакою⁶⁹.

Також підтверджено результати інших авторів⁷⁰ щодо можливості добору окремих сімей тетраплоїдів (потомства окремої рослини) за ознаками високої продуктивності, оскільки встановлено, що 40% сімей все ж таки перевищували диплоїдну форму за ознаками висоти рослин, 60% сімей – за ознаками технічної довжини стебла, а 20% сімей – за ознаками маси насіння з рослини. Відповідно 60 і 40% сімей з істотно нижчою висотою рослин і технічною довжиною стебла можна використати для селекції низькорослих сортів насінневого напрямку використання.

У будь-якому випадку реакція на поліплоїдизацію залежить від генотипу конопель і її потрібно встановлювати для кожного селекційного матеріалу. У перспективі виділення таких тетраплоїдів чи триплоїдів, які матимуть значну селекційну цінність і будуть перевищувати вихідні форми-диплоїди.

Інше важливе питання – це вплив поліплоїдії на вміст специфічних рослин конопель канабіноїдів.

Щоб максимізувати врожай, виробники конопель з високим вмістом КБД чи інших сполук надають перевагу жіночим рослинам (матірці), яка містить більше канабіноїдних сполук⁷¹, це досягається за рахунок: 1) використання вартісного насіння, з якого розвивається близько 100% жіночих рослин (таке насіння отримують у першому поколінні у результаті запилення жіночих рослин однодомними, або в результаті утворення насіння на жіночих рослинах внаслідок їх самозапилення чоловічими квітками, поява яких індукована хімічними агентами); 2) використання вегетативно розмножуваних клонів жіночих рослин; 3) видалення чоловічих рослин (плосконі) з посівів дводомної форми конопель. Пилок конопель розноситься вітром на великі відстані, без належної просторової ізоляції посівів відбувається запилення жіночих рослин, що призводить до зниження вмісту канабідіолу⁷² чи інших сполук, внаслідок переорієнтації фізіолого-біохімічних процесів не на формування максимальної кількості залозистих волосків (трихом) і вмісту канабіноїдів, а на формування насіння, а також внаслідок того, що

⁶⁹ Лайко І. М., Міщенко С. В. Взаємозв'язок між вмістом олії та кількісними ознаками насіння конопель. *Луб'яні та технічні культури*. 2019. Вип. 7 (12). С. 34–41. DOI: 10.48096/btc.2019.7(12).34-41

⁷⁰ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁷¹ Kurtz L. E., Brand M. H., Lubell-Brand J. D. Production of tetraploid and triploid hemp. *HortScience*. 2020. Vol. 55, Iss. 10. P. 1703–1707. DOI: 10.21273/HORTSCI15303-20

⁷² Там само.

рослин переходять до фази дозрівання насіння і відбувається скорочення як тривалості вегетаційного періоду, так і тривалості періоду біосинтезу канабіноїдів, зменшення розмірів суцвіття і жіночих квіток у них, які містять специфічні сполуки.

З метою попередження небажаного запилення жіночих рослин конопель дослідниками було запропоновано використання стерильних триплоїдів⁷³. Індукція триплоїдії – звичайна стратегія, що використовується селекціонерами для одержання стерильного матеріалу багатьох сільськогосподарських культур. При цьому триплоїдні коноплі отримують шляхом схрещування природно диплоїдних конопель з тетраплоїдними, отриманими штучно з використанням попередньо пророслого насіння та інгібіторів мітотичного веретена. Такі рослини лише інколи можуть мати знижену фертильність, зокрема частка утвореного на них насіння склала 2%, порівняно з диплоїдними аналогами. Статистично істотного збільшення вмісту канабіноїдів не відбувається, але разом з тим триплоїди демонструють збільшення загальної біомаси і маси суцвіття⁷⁴, тобто у підсумку можна отримати більший урожай непсихотропного канабігеролу з одиниці площі.

Дослідники повідомляють, що на листках тетраплоїдних конопель приблизно на 40% збільшилася щільність трихом у поєднанні зі значними змінами в профілі терпенів та збільшенням канабідіолу на 9% (у відносних одиницях), при цьому істотного збільшення врожаю сухих суцвіть чи вмісту тетрагідроканабінолу не спостерігали⁷⁵. Поліплоїдизація могла збільшувати вміст тетрагідроканабінолу тільки у мікспоїдних рослин, а у тетраплоїдних рослин вміст цієї речовини був нижчим, ніж у диплоїдних^{76,77}. Частоти варіаційного ряду зміщувались у бік менших значень вмісту канабіноїдних сполук (лівостороння асиметрія)⁷⁸.

⁷³ Там само.

⁷⁴ Crawford S., Rojas B. M., Crawford E., Otten M., Schoenenberger T. A., Garfinkel A. R., Chen H. Characteristics of the diploid, triploid, and tetraploid versions of a cannabigerol-dominant F₁ hybrid industrial hemp cultivar, *Cannabis sativa* 'Stem Cell CBG'. *Genes*. 2021. Vol. 12. 923. DOI: 10.3390/genes12060923

⁷⁵ Parsons J. L., Martin S. L., James T., Golenia G., Boudko E. A., Hepworth S. R. Polyploidization for the genetic improvement of *Cannabis sativa*. *Front. Plant Sci.* 2019. Vol. 10. 476. DOI: 10.3389/fpls.2019.00476

⁷⁶ Mansouri H., Bagheri M. Induction of polyploidy and its effect on *Cannabis sativa* L. *Cannabis sativa* L. – *Botany and Biotechnology* / eds: S. Chandra, H. Lata, M. ElSohly. Cham: Springer, 2017. 3. 365–383. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6_17

⁷⁷ Bagheri M., Mansouri H. Effect of induced polyploidy on some biochemical parameters in *Cannabis sativa* L. *Appl Biochem Biotechnol.* 2015. Vol. 175, Iss. 5. P. 2366-2375. DOI: 10.1007/s12010-014-1435-8

⁷⁸ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

Ми отримали результати вмісту канабіноїдів у дослідженнях з поліплоїдизації, об'єктом яких слугував сорт промислових конопель практично з відсутністю канабіноїдних сполук (інколи проявляються лише слідові кількості), однак окремі тенденції можна виокремити (табл. 4).

Таблиця 4

**Вміст канабіноїдних сполук у різноплоїдних формах
однодомних конопель сорту Миколайчик**

Форма	Вміст канабіноїдних сполук, % (середній, Min–Max)				
	кана- бідіол	тетрагідро- канабінол	кана- бінол	кана- біхромен	кана- бігерол
Диплоїдна	0,094	0,002	0,000	0,000	0,160
Тетра- плоїдна	0,056 0,000– 0,094	0,000 –	0,000 –	0,000 –	0,048 0,000–0,240

Примітка. Оригінальні дані.

Так, у тетраплоїдній формі, порівняно з диплоїдною, за середніми даними вміст канабіноїдних сполук зменшився: канабідіолу з 0,094 до 0,056%, тетрагідроканабінолу з 0,002 до відсутності у межах чутливості газового хроматографа HP 6890 Series GC System з детектуванням і застосовуваних методів ідентифікації (0,000%), канабігеролу з 0,160 до 0,048%. При цьому окремі потомства тетраплоїдних рослин характеризувались вмістом канабідіолу на рівні вихідної форми (0,094%), а окремі за вмістом канабігеролу перевищували її (0,240%). Канабінолу та канабіхромену ідентифіковано не було. Позитивним є те, що в тетраплоїдних рослин конопель був відсутній саме тетрагідроканабінол (у вихідній формі знаходився в межах дозволеної чинним законодавством норми), що відкриває широкі перспективи для селекції конопель з відсутністю психотропних властивостей.

Отже, дослідження поліплоїдії у лікарських конопель здебільшого спрямовані у двох напрямках – збільшення біомаси рослин, придатної для виділення канабіноїдів, та у напрямі підвищення вмісту непсихотропних сполук.

**5. Особливості схрещування різноплоїдних рослин конопель,
отримання триплоїдів і мейотичних автотетраплоїдів**

Реципрокні схрещування автотетраплоїдної форми конопель з диплоїдною $4x \times 2x$ і $2x \times 4x$ з метою отримання триплоїдів ($2n = 30$) показали, що в обох комбінаціях гібридного насіння утворюється дуже мало, однак використання у ролі батьківської форми (запиловача) диплоїдної форми конопель, яка продукує життєздатний пилок, забезпечувало формування більш повноцінного насіння. У

схрещуваннях, де в ролі запилювача була тетраплоїдна форма, життєздатного насіння утворилось значно менше, до того ж у більшості рослин вони були недорозвиненими, легкими, з масою тисячі штук в межах 4–12 г. Схожість гібридного насіння першої комбінації схрещування була вищою (58,8%), порівняно з другою комбінацією (лише 12,0%). Значна частина однодомних і чоловічих рослин характеризувалась високим ступенем стерильності пилку, яка досягала значення 97–100%. Вихід тетраплоїдів у першому поколінні гібридів був невисоким: у комбінації $4x \times 2x$ він склав 23,3%, а в комбінації $2x \times 4x$ – 13,2%; решта гібридного потомства була диплоїдною. Такий характер успадкування пояснюється тим, що за різноплоїдних схрещувань утворюються переважно слабо життєздатне триплоїдне насіння з недорозвиненим зародком і рослини гинуть на різних етапах онтогенезу. Із гібридів першого покоління більшість триплоїдних рослин за статевими типами були жіночими рослинами, решта – чоловічими (вихідна форма – дводомна)⁷⁹.

У результаті схрещування триплоїдних жіночих рослин (матірки) з тетраплоїдними однодомними рослинами за схемою $3x \times 4x$ у першому поколінні було отримано різноплоїдні рослини, співвідношення яких за статтю було наступним: 21 тетраплоїд: 2 триплоїди: 1 диплоїд. Утворення тетраплоїдів при цьому, як зазначає автор, обумовлено участю у заплідненні диплоїдних нередукованих гамет, які частково утворюються у триплоїдів в процесі макроспорогенезу. Важливо, що характерною особливістю отриманих від схрещування $3x \times 4x$ мейотичних тетраплоїдів конопель було те, що в першому і другому поколіннях за інтенсивністю росту і висоту стебел вони були ліпшими не лише за мейотичну тетраплоїдну форму, індуковану безпосередньо дією колхіцину, а й за вихідну диплоїдну форму⁸⁰.

ВИСНОВКИ

1. Поліплоїдія відіграє велику роль в процесах філогенезу і є одним із шляхів еволюції рослин. Поліплоїди часто виявляють підвищену життєздатність і в деяких випадках перевершують своїх диплоїдних родичів за низкою показників, що успішно використовується селекціонерами для створення нових удосконалених сортів. Окрім того, поліплоїдні геноми можуть бути більш схильними до структурних змін, таких як втрата генних копій або послідовностей, наявність генів або послідовностей у кількох копіях, гомологічні обміни, що підвищує рівень мінливості ознак.

⁷⁹ Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

⁸⁰ Там само.

2. Досить перспективний напрям отримання штучних поліплоїдів конопель, як і інших сільськогосподарських культур, – дія антимітотичних речовин на експланти в культурі *in vitro*.

3. Непрямим методом для ідентифікації тетраплоїдних конопель є коефіцієнт відношення «довжина листка: ширина листка», яке у тетраплоїдних рослин складало від 4,31 до 5,01, а у диплоїдних – від 7,03 до 7,82. Частки складної листкової пластинки у тетраплоїдів коротші й ширші, а у диплоїдів – довші і вужчі, відношення довжини до ширини зазвичай не перевищувало 5,00.

4. Штучне переведення конопель з диплоїдності на тетраплоїдність супроводжується, порівняно з вихідними формами, істотними змінами ознак, що стосується анатомічної та морфологічної будови вегетативних і генеративних органів, протікання біохімічних процесів в рослинному організмі. Реакція на поліплоїдизацію залежить від генотипу конопель і її потрібно встановлювати для кожного селекційного матеріалу.

5. Тетраплоїдні коноплі зазвичай дещо поступаються диплоїдним за урожайністю, однак на прикладі сорту нового покоління було вперше встановлено неістотне зниження висоти тетраплоїдних рослин, технічної довжини і маси стебла, разом з тим виявлено значне збільшення діаметру стебла і формування більш потужного шару волокна, у результаті мав місце високий рівень вираження ознаки маси волокна і вмісту волокна; також вперше встановлено неістотне зниження насінневої продуктивності, що теж додає ваги використанню тетраплоїдів як вихідного селекційного матеріалу. Підтверджено можливість добору окремих сімей тетраплоїдів (потомства окремої рослини) за ознаками високої продуктивності, оскільки 40% сімей все ж таки перевищували диплоїдну форму за ознаками висоти рослин, 60% сімей – за ознаками технічної довжини стебла, а 20% сімей – за ознаками маси насіння з рослини; відповідно 60 і 40% сімей з істотно нижчою висотою рослин і технічною довжиною стебла можна використати для селекції низькорослих сортів насінневого напрямку використання.

6. Дослідження поліплоїдії у лікарських конопель здебільшого спрямовані у двох напрямках – у напрямі збільшення біомаси рослин, придатної для виділення канабіноїдів, та у напрямі підвищення вмісту непсихотропних сполук. Статистично істотного збільшення вмісту канабіноїдів при цьому не відбувається, але разом з тим триплоїди демонструють збільшення загальної біомаси і маси суцвіття. Позитивним є те, що в тетраплоїдних рослин конопель був відсутній саме тетрагідроканабінол (у вихідної форми знаходився в межах дозволеної чинним законодавством норми), що відкриває широкі перспективи для селекції конопель з відсутністю психотропних властивостей.

АНОТАЦІЯ

Поліплоїдія відіграє велику роль в процесах філогенезу і є одним із шляхів еволюції рослин. Поліплоїди часто виявляють підвищену життєздатність і в деяких випадках перевершують своїх диплоїдних родичів за низкою показників, характеризуються підвищеною схильністю до структурних змін геному, що успішно використовується селекціонерами для створення нових удосконалених сортів. У даному розділі монографії обґрунтовано селекційно-генетичні основи використання поліплоїдії у промислових конопель, описано методику одержання поліплоїдів, зокрема в культурі *in vitro*, вплив поліплоїдії на біологічні (морфологічні, анатомічні, біохімічні, статеві) та селекційні ознаки, вміст канабіноїдних сполук, розкрито особливості схрещування рослин конопель з різною плодючістю, отримання триплоїдів і мейотичних автотетраплоїдів. Зроблено акцент, що штучне переведення конопель з диплоїдності на тетраплоїдність супроводжується, порівняно з вихідними формами, істотними змінами ознак, що стосується анатомічної та морфологічної будови вегетативних і генеративних органів, протікання біохімічних процесів в рослинному організмі. Реакція на поліплоїдизацію залежить від генотипу і її потрібно встановлювати для кожного селекційного матеріалу. Вперше отримано селекційний матеріал тетраплоїдних конопель з високим рівнем прояву селекційних ознак, порівняно з диплоїдною формою.

Література

1. 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
2. Коноплярство: наукові здобутки і перспективи: монографія / Вировець В. Г., Лайко І. М., Мигаль М. Д. та ін.; за ред. І. О. Маринченка, С. Guo. Суми: ФОП Щербина І. В., 2018. С. 6–13.
3. Вировець В. Г., Лайко І. М., Онупрієнко Л. Г., Ситник В. П., Щербань І. І., Кириченко Г. І. Збільшення вмісту волокна в стеблах посівних конопель (*Cannabis sativa* L.) як результат цілеспрямованої комплексної дії селекції. *Селекція і насінництво*. 2008. Вип. 96. С. 195–204. DOI: 10.30835/2413-7510.2008.77226
4. Лайко І. М., Вировець В. Г., Кириченко Г. І., Міщенко С. В., Кмець І. Л. Нове в прийомах розширення генетичного потенціалу конопель енергетичного напрямку використання. *Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2013. Вип. 19. С. 79–82.
5. Вожегова Р. А., Лавриненко Ю. О., Марченко Т. Ю., Міщенко С. В., Пілярська О. О., Базиленко Є. О. Перспективні культури

для біоенергетики України. *Аграрні інновації*. 2022. № 11. С. 5–15. DOI: 10.32848/agrar.innov.2022.11.1

6. Лайко І. М. Теоретичні і практичні основи селекції закріплення однодомності, елімінації канабіноїдів та підвищення продуктивності конопель: дис. ... доктора с.-г. наук: 06.01.05. Глухів, 2012. 423 с.

7. Міщенко С. В., Кириченко Г. І., Лайко І. М. Новий сорт промислових конопель ‘Артеміда’ універсального напрямку господарського використання з підвищеним умістом олії та поліпшеною якістю волокна. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2021. Т. 17, № 1. С. 43–50. DOI: 10.21498/2518-1017.17.1.2021.228208

8. Laiko I. M., Kobyzeva L. N., Mishchenko S. V., Kyrychenko H. I. Intra-population variability of oil content and fatty acid composition in modern hemp cultivars. *Plant Breeding and Seed Production*. 2022. Vol. 121. P. 20–27. DOI: 10.30835/2413-7510.2022.260990

9. Лайко І. М., Міщенко С. В., Орлов М. М., Маринченко І. О., Шкурдода С. В., Пасічник В. В. Перспективи переорієнтації селекції конопель для створення сортів медичного напрямку використання. *Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2015. Вип. 23. С. 107–111.

10. Кириченко Г. І., Лайко І. М., Міщенко С. В. Аналіз колекційних зразків *Cannabis sativa* L. за вмістом канабіноїдних сполук і хемотипом. *Генетичні ресурси рослин*. 2019. № 25. С. 115–128. DOI: 10.36814/pgr.2019.25.09

11. Mishchenko S. V., Laiko I. M., Kyrychenko H. I. Breeding of industrial hemp with a high content of cannabigerol by the case of ‘Vik 2020’ cultivar. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2021. Vol. 17, No 2. P. 105–112. DOI: 10.21498/2518-1017.17.2.2021.236514

12. Burczyk H., Kowalski M., Plawuszewski M. Trends and methods in hemp breeding in Poland. *J. Nat. Fibers*. 2005. Vol. 2, Iss. 1. P. 25–33. DOI: 10.1300/J395v02n01_03

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. Методика селекції і насінництва однодомних конопель / Лайко І. М., Вировець В. Г., Мигаль М. Д. та ін.; за ред. С. М. Ткаченка. Суми: ФОП Щербина І. В., 2021. 44 с.

15. Zwenger S. R. The biotechnology of *Cannabis sativa*. 2nd edit. New York: Extreme Publication, Inc., 2014. 249 p.

16. *Cannabis sativa* L. – Botany and Biotechnology / S. Chandra, H. Lata, M. A. ElSohly (Eds.). Cham: Springer, 2017. 474 p. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6

17. Brian C., Dong Z., McKay J. K. Hemp genetics and genomics. *Industrial Hemp as a Modern Commodity Crop* / D. W. Williams (Ed.). Madison, 2019. P. 94–108. DOI: 10.2134/industrialhemp.c6
18. Petit J., Salentijn E. M. J., Paulo M.-J., Denneboom C., van Loo E. N., Trindade, L. M. Elucidating the genetic architecture of fiber quality in hemp (*Cannabis sativa* L.) using a genome-wide association study. *Front. Genet.* 2020. Vol. 11. 566314. DOI: 10.3389/fgene.2020.566314
19. Шевцов І. А. Генетичні принципи покращення автополіплоїдних рослин. Київ: Наукова думка, 1976. 216 с.
20. Sattler M. C., Carvalho C. R., Clarindo W. R. The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta.* 2016. Vol. 243. P. 281–296. DOI: 10.1007/s00425-015-2450-x
21. Trojak-Goluch A., Kawka-Lipińska M., Wielgusz K., Praczyk M. Polyploidy in industrial crops: applications and perspectives in plant breeding. *Agronomy.* 2021. Vol. 11, Iss. 12. 2574. DOI: 10.3390/agronomy11122574
22. Schiessl S.-V., Katche E., Ihien E., Chawla H. S., Mason A. S. The role of genomic structural variation in the genetic improvement of polyploid crops. *The Crop Journal.* 2019. Vol. 7, Iss. 2. P. 127–140. DOI: 10.1016/j.cj.2018.07.006
23. Sharma V., Srivastava D. K., Gupta R. C., Singh B. Abnormal meiosis in tetraploid (4x) *Cannabis sativa* (L.) from Lahaul-Spiti (Cold Desert Higher Altitude Himalayas) – A neglected but important herb. *J. Biol. Chem. Chron.* 2015. Vol. 2, Iss. 1. P. 38–42.
24. Ramsey J., Schemske D. W. Pathways, mechanisms, and rates of polyploidy formation in flowering plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 1998. Vol. 29. P. 467–501.
25. Talebi S. F., Saharkhiz M. J., Kermani M. J., Sharafi Y., Fard F. R. Effect of different antimetabolic agents on polyploid induction of anise hyssop (*Agastache foeniculum* L.). *Caryologia.* 2017. Vol. 70, Iss. 2. P. 184-193. DOI: 10.1080/00087114.2017.1318502
26. Мельничук О. В. Одержання поліплоїдних ліній міскантусу гігантського (*Miscanthus × giganteus* Greef et Deu.) в умовах *in vitro* з використанням антимітотичних сполук динітроанілінового ряду: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.20. Київ, 2020. 176 с.
27. Чугункова Т. В., Лялько І. І., Дубровна О. В. Цитогенетичні особливості тетраплоїдних запилювачів цукрових буряків. *Цитология и генетика.* 2006. Т. 40, № 1. С. 37–41.
28. Рябовол Л. О. Диплоїдизація рослинного матеріалу буряка цукрового у культурі *in vitro* під впливом колхіцину до живильного середовища. *Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва.* 2010. Вип. 73, Ч. 1: Агронімія. С. 127–133.

29. Роїк М. В., Редько В. І., Бех Н. С., Недяк Т. М., Білоус Н. В., Войтюк Ю. В. Отримання тетраплоїдів кормових буряків методом поліплоїдизації у культурі *in vitro*. *Цукрові буряки*. 2010. № 2. С. 6–7.

30. Стефанюк В. Й. Поліплоїдизація стевії в культурі *in vitro*. *Наукові доповіді НУБіП*. 2016. Вип. 6 (63). DOI: 10.31548/dopovidi2016.06.013

31. Мельничук О. В., Ожерєдов С. П., Рахметов Д. Б., Рахметова С. О., Баср О. О., Шиша О. М., Ємець А. І., Блюм Я. Б. Поліплоїдизація *Miscanthus sinensis* за допомогою динітроанілінів з низькою фітотоксичністю. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2020. Т. 26. С. 228–233. DOI: 10.7124/FEEEO.v26.1271

32. Melnychuk O. V., Ozheredov S. P., Rakhmetov D. B., Shysha O. M., Rakhmetova S. O., Yemets A. I., Blume Ya. B. Induction of polyploidy in giant miscanthus (*Miscanthus* × *Giganteus* Greef Et Deu.). *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. 2020. Vol. 74, Iss. 3. P. 206–214. DOI: 10.2478/prolas-2020-0032

33. Сидоренко М. М. Тетраплоїдні однодомні коноплі як вихідний матеріал для селекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Селекція і насінництво». Київ, 1984 23 с.

34. Kurtz L. E., Brand M. H., Lubell-Brand J. D. Production of tetraploid and triploid hemp. *HortScience*. 2020. Vol. 55, Iss. 10. P. 1703–1707. DOI: 10.21273/HORTSCI15303-20

35. Bagheri M., Mansouri H. Effect of induced polyploidy on some biochemical parameters in *Cannabis sativa* L. *Appl Biochem Biotechnol*. 2015. Vol. 175, Iss. 5. P. 2366–2375. DOI: 10.1007/s12010-014-1435-8

36. Mansouri H., Bagheri M. Induction of polyploidy and its effect on *Cannabis sativa* L. *Cannabis sativa L. – Botany and Biotechnology* / eds: S. Chandra, H. Lata, M. ElSohly. Cham: Springer, 2017. 3. 365–383. DOI: 10.1007/978-3-319-54564-6_17

37. Parsons J. L., Martin S. L., James T., Golenia G., Boudko E. A., Hepworth S. R. Polyploidization for the genetic improvement of *Cannabis sativa*. *Front. Plant Sci*. 2019. Vol. 10. 476. DOI: 10.3389/fpls.2019.00476

38. Galán-Ávila A., García-Forteza E., Prohens J., Herraiz F. J. Development of a direct *in vitro* plant regeneration protocol from *Cannabis sativa* L. seedling explants: developmental morphology of shoot regeneration and ploidy level of regenerated plants. *Front. Plant Sci*. 2020. Vol. 11. 645. DOI: 10.3389/fpls.2020.00645

39. Мигаль М. Д. Експериментальна зміна статі конопель: монографія. Суми, 2004. 248 с.

40. Лайко І. М., Міщенко С. В. Взаємозв'язок між вмістом олії та кількісними ознаками насіння конопель. *Луб'яні та технічні культури*. 2019. Вип. 7 (12). С. 34–41. DOI: 10.48096/btc.2019.7(12). 34-41

41. Crawford S., Rojas B. M., Crawford E., Otten M., Schoenenberger T. A., Garfinkel A. R., Chen H. Characteristics of the diploid, triploid, and tetraploid versions of a cannabigerol-dominant F₁ hybrid industrial hemp cultivar, *Cannabis sativa* 'Stem Cell CBG'. *Genes*. 2021. Vol. 12. 923. DOI: 10.3390/genes12060923

Information about the author:

Mishchenko Serhii Volodymyrovych,

Doctor of Agricultural Sciences,
Associate Professor at the Department of Biology,
Human Health and Teaching Methods,
Oleksandr Dovzhenko Hlukhiv National Pedagogical University,
24, Kyivska str., Hlukhiv, Sumy region, 41400, Ukraine