

УДК 633.522:631.527

Научная статья



Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2025-398-09-99-105

Т.А. Базанов ✉

И.В. Ушаповский

Н.Н. Логинова

Е.В. Минина

П.Д. Вересова

Федеральный научный центр лубяных культур, Тверь, Россия

✉ t.bazanov@fncl.ru

Поступила в редакцию: 23.06.2025

Одобрена после рецензирования: 13.08.2025

Принята к публикации: 28.08.2025

© Базанов Т.А., Ушаповский И.В.,
Логинова Н.Н., Минина Е.В., Вересова П.Д.

Использование гексануклеотидных SSR-маркеров для молекулярно-генетической паспортизации конопли посевной

РЕЗЮМЕ

В статье рассмотрена проблема молекулярно-генетической паспортизации сортов конопли посевной (*Cannabis sativa* L.). Актуальность исследования обусловлена необходимостью разработки эффективных методов определения генетической идентичности растений и контроля подлинности посевного материала в условиях интенсивного развития селекционной работы.

Цель исследования — разработать комплекс SSR-маркеров, который позволит обеспечить надежную дифференциацию сортов конопли посевной для селекционно-семеноводческой работы и молекулярно-генетической паспортизации. В работе представлены результаты анализа двенадцати сортов однодомной технической конопли среднерусского экотипа с использованием двух наборов SSR-маркеров: высокополиморфных динуклеотидных маркеров, а также разработанных гексануклеотидных микросателлитных маркеров. Исследование включало выделение ДНК, ПЦР-амплификацию, детекцию аллелей и статистическую обработку данных. Полученные результаты показали крайне высокий уровень внутрисортного полиморфизма при использовании высокополиморфных маркеров, что затрудняет их применение для генетической паспортизации. Разработанный комплекс из 10 гексануклеотидных SSR-маркеров, охватывающих все хромосомы генома, позволил дифференцировать большинство образцов на уровне сортов.

Ключевые слова: конопля посевная (*Cannabis sativa* L.), молекулярно-генетическая паспортизация, SSR-маркеры, генетическая идентификация, селекция, ПЦР, дендрограмма

Для цитирования: Базанов Т.А., Ушаповский И.В., Логинова Н.Н., Минина Е.В., Вересова П.Д. Использование гексануклеотидных SSR-маркеров для молекулярно-генетической паспортизации конопли посевной. *Аграрная наука*. 2025; 398 (09): 99–105. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-398-09-99-105>

Research article



Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2025-398-09-99-105

Taras A. Bazanov ✉

Igor V. Ushapovsky

Natalya N. Loginova

Ekaterina V. Minina

Polina D. Veresova

Federal Research Center for Bast Fiber Crops, Tver, Russia

✉ t.bazanov@fncl.ru

Received by the editorial office: 23.06.2025

Accepted in revised: 13.08.2025

Accepted for publication: 28.08.2025

© Bazanov T.A., Ushapovsky I.V.,
Loginova N.N., Minina E.V., Veresova P.D.

The use of hexanucleotide SSR-markers for molecular genetic certification of *Cannabis sativa* L.

ABSTRACT

This research addresses the urgent issue of molecular genetic certification of hemp (*Cannabis sativa* L.) varieties, crucial amid rapid breeding progress and expanding industrial use. The aim of the research is a development a complex of SSR markers that will ensure reliable differentiation of hemp varieties for breeding and seed production practices and molecular genetic certification. The work presents the results of the analysis of twelve varieties of monoecious industrial hemp of the Central Russian ecotype using two sets of SSR markers: highly polymorphic dinucleotide markers and developed hexanucleotide microsatellite markers. The study included DNA extraction, PCR amplification, allele detection and statistical data processing. The results obtained showed an extremely high level of intravarietal polymorphism when using highly polymorphic markers, which complicates their use for genetic certification. The developed complex of 10 hexanucleotide SSR markers covering all chromosomes of the genome made it possible to carry out intravarietal differentiation of samples.

Key words: *Cannabis sativa* L., molecular genetic certification, SSR-markers, genetic identification, selection, PCR, dendrogram

For citation: Bazanov T.A., Ushapovsky I.V., Loginova N.N., Minina E.V., Veresova P.D. The use of hexanucleotide SSR-markers for molecular genetic certification of *Cannabis sativa* L. *Agrarian science*. 2025; 398 (09): 99–105 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-398-09-99-105>

Введение/Introduction

Конопля посевная (*Cannabis sativa* L.) — однолетнее растение, которое на протяжении тысячелетий является одной из важнейших сельскохозяйственных культур. Она обладает уникальным комплексом полезных свойств и находит широкое применение в различных отраслях промышленности: текстильной, строительной, пищевой и фармацевтической.

Волокно конопли отличается высокой прочностью и износостойкостью, что делает его незаменимым материалом для производства канатов, веревок и технических тканей [1]; из него получают целлюлозу высокого качества [2], которая используется в производстве бумаги [3] и композитных материалов [4]. Семена конопли содержат до 35% ценного масла, богатого полиненасыщенными жирными кислотами, витаминами и минералами [5]. Наличие в ее тканях каннабиноидов, терпеноидов и других биологически активных веществ показывает перспективность использования производных конопли в лечении различных заболеваний, включая хронические боли, неврологические расстройства и воспалительные процессы [6, 7].

В условиях интенсивного развития селекционной работы и расширения ассортимента сортов возникает необходимость в новых эффективных методах определения генетической идентичности растений и контроля подлинности посевного материала. Современным направлением является молекулярно-генетическая паспортизация, использующая анализ ДНК для идентификации генотипов. Кроме того, молекулярные маркеры рассматривают в качестве действенного способа, защищающего права селекционера [8].

Одним из наиболее эффективных инструментов молекулярно-генетической паспортизации сельскохозяйственных культур на сегодняшний день являются SSR-маркеры. Они широко применяются для идентификации генотипов, сохранения генетических ресурсов, определения родственных связей и паспортизации [9–11].

Молекулярно-генетическая паспортизация конопли посевной (*Cannabis sativa* L.) ограничена рядом факторов. Внутрисортной полиморфизм со средней генетической дистанцией 0,14 усложняет определение генетической однородности, а высокая пластичность генома и перекрестное опыление приводят к большому аллельному разнообразию даже у таких стабильных маркеров, как микросателлиты [12, 13]. Наличие каннабиноидов как метаболита (предельное содержание ТГК в сортах, включенных в реестр Госсортокмиссии, — 0,1%¹) требует специальных методов работы с материалом. Это обуславливает поиск новых подходов к выбору молекулярных маркеров.

В целях молекулярно-генетической паспортизации сельскохозяйственных культур с помощью SSR рекомендуются наиболее полиморфные ди- и тринуклеотидные микросателлитные маркеры, дающие большое количество информации о генетическом разнообразии. Однако чрезвычайно высокий внутрисортной полиморфизм конопли посевной при таком подходе дифференцирует каждый исследуемый образец как индивидуальный генотип, позволяя лишь группировать так называемые сорта-популяции, что является препятствием для надежной генетической паспортизации. Необходим поиск микросателлитных последовательностей с минимальными внутри- и максимальными межсортными аллельными вариациями. Поскольку вариации в SSR-маркерах обусловлены ошибками репликации ДНК или неравным кроссинговером хромосом [14], можно предположить, что меньшую степень изменчивости дадут микросателлиты с большим количеством нуклеотидных оснований в паттерне, например гексануклеотидные повторы. Такие маркеры обладают меньшей частотой мутаций типа «вставка/делеция», минимальной склонностью к образованию вторичных структур, наименьшей вероятностью ошибок при репликации и, следовательно, сохраняют стабильность на протяжении большего числа поколений [15, 16]. Конечно, такие маркеры имеют и существенный недостаток — невысокую вариабельность результатов амплификации, что требует подбора большого количества локусов и снижает информативность данных о генетическом разнообразии. Однако для целей генетической паспортизации конопли такой метод может оказаться наиболее оптимальным.

Цель исследования — разработать комплекс SSR-маркеров, который позволит обеспечить надежную дифференциацию сортов конопли посевной для селекционно-семеноводческой работы и молекулярно-генетической паспортизации.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Исследование было проведено в 2024–2025 гг. в лаборатории молекулярно-генетических исследований и клеточной селекции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр лубяных культур» (далее — ФНЦ ЛК). Исходный материал представлен двенадцатью сортами однодомной технической конопли среднерусского экотипа, официально зарегистрированными в Государственном реестре селекционных достижений Российской Федерации. Информация о наименованиях сортов и оригинаторах приведена в таблице 1.

¹ Постановление Правительства Российской Федерации от 06.02.2020 г. № 101 «Об установлении сортов наркосодержащих растений, разрешенных для культивирования для производства используемых в медицинских целях и (или) ветеринарии наркотических средств и психотропных веществ, для культивирования в промышленных целях, не связанных с производством или изготовлением наркотических средств и психотропных веществ, а также требований к сортам и условиям их культивирования». Собрание законодательства Российской Федерации. 2020. (Опубликовано онлайн: 10.02.2020).

Материал для молекулярно-генетического анализа был получен из коллекции ФНЦ ЛК. Каждый сорт представлен восемью индивидуально отобранными образцами семян для обеспечения репрезентативности исследования.

Выделение ДНК из семян осуществлялось методом фенольно-хлороформной экстракции с применением цетилтриметиламмония бромид (СТАВ-метод), что позволило получить высококачественный геномный материал, пригодный для последующего молекулярно-генетического анализа. Перед процедурой SSR-генотипирования концентрация выделенных образцов ДНК была доведена до значения 10 нг/мкл.

С целью подтверждения положения о сложностях применения высокополиморфных динуклеотидных SSR-маркеров для паспортизации конопли посевной все исследуемые генотипы сначала были проанализированы с применением линейки из шести флуоресцентно-меченых микросателлитных маркеров, использованных в работе С. Benkirane, M. Charif, C.M. Müller и др. [17] и показавших высокий уровень внутрисортной изменчивости.

Поиск гексануклеотидных микросателлитных маркеров проводился на всех 10 хромосомах генома конопли с использованием программного обеспечения Krait2 (лицензия MIT) [18]. Основой для поиска маркеров служили последовательности FASTA геномов *Cannabis sativa* L. сортов Purple Kush и Finola из библиотеки NCBI² (GCA_000230575.5; GCA_003417725.2). Параметры были скорректированы для выявления идеальных гексануклеотидных мотивов с количеством повторов от 3 до 6. Для каждой хромосомы отбиралось 5–6 микросателлитных маркеров с различающимися мотивами. Праймеры к микросателлитам разрабатывались с помощью программного обеспечения Primer3plus. Критерии для разработки праймеров были следующими: длина — 19–24 пары оснований; содержание GC — 40–60%; предполагаемый размер ампликона — 100–300 пар оснований.

Амплификация исследуемых генотипов конопли посевной с использованием динуклеотидных SSR-маркеров проходила в соответствии с условиями, указанными в работе С. Benkirane, M. Charif, C.M. Müller и др. [17]. Амплификация с использованием подобранных гексануклеотидных SSR-маркеров проводилась по следующей программе: начальная денатурация — 3 мин при 95 °С; затем 30 циклов: денатурация при 95 °С — 30 с, отжиг праймеров в течение 30 с при температуре 61 °С, элонгация при 72 °С — 45 с; терминальная элонгация — 5 мин при 72 °С. Реакционная смесь для проведения ПЦР объемом 25 мкл состояла из следующих компонентов: 30 нг исследуемой ДНК, 2,5 мкМ MgCl₂, 200 мкМ dNTP, 1 единица Taq-полимеразы; количества

Таблица 1. Сорта конопли, используемые в эксперименте

Table 1. Researched *Cannabis sativa* L. varieties

№	Сорт	Оригинатор
1	Вера	ФНЦ ЛК / ООО «Коноплекс»
2	Сурская	
3	Надежда	
4	Людмила	ФНЦ ЛК
5	Милена	ООО «Коноплекс»
6	Роман	
7	Диана	ФАНЦ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого / ФНЦ ЛК / ООО «Мордовские пенькозаводы»
8	Юлиана	ФАНЦ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого / КФХ Пономаренко А.И.
9	Гентус	
10	Димра	
11	Марго	ФАНЦ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого / ФНЦ ЛК
12	Ингрета	

прямого и обратного праймеров отдельных маркеров отличались и подбирались экспериментально.

Первичное определение полиморфных гексануклеотидных маркеров проводилось с использованием электрофореза в высокоразрешающем 8%-м полиакриламидном геле, состоящем из 30%-го раствора акриламида (2,7 мл), раствора 1×TBE-буфера (7,3 мл), 5 мкл раствора TEMED (N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин) и 50 мкл 10%-го раствора APS общим объемом 10 мл. Электрофорез проводился в 1×TBE-буфере в течение 60 мин при 100 В. Гели окрашивались бромистым этидием, фотографировались в ультрафиолете и анализировались с помощью программного обеспечения Quantity One (правообладатель Bio-Rad Laboratories, Inc., США). В ходе дальнейшего SSR-анализа для каждой хромосомы было отобрано по одному маркеру, показавшему наибольший полиморфизм. Прямые праймеры для этих маркеров были заново синтезированы с флуоресцентными метками и использованы для повторной амплификации исследуемых образцов.

Продукты амплификации с мечеными праймерами денатурировались формамидом и разделялись методом капиллярного электрофореза с помощью генетического анализатора НАНОФОР 05 (ООО «НПФ Синтол», Россия) с использованием маркера молекулярного веса СД-450 (ООО «НПФ Синтол», Россия). Размеры амплифицированных фрагментов определяли с помощью программного обеспечения «ДНК-ФА» (ООО «НПФ Синтол», Россия). Для оценки полиморфизма микросателлитных локусов применялся индекс PIC (Polymorphic Index Content). Для построения дендрограмм генетического подобия использовано программное обеспечение DARwin v. 6 (правообладатель DARwin software, США).

² The National Center for Biotechnology Information.
URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения 15.09.2024).

Результаты и обсуждение / Results and discussion

В ходе анализа с использованием набора динуклеотидных маркеров выявлено варьирование числа аллелей на locus в диапазоне от 5 до 21 аллели. Из общего числа шести исследованных локусов четыре были идентифицированы как биаллельные. Аллельный спектр был представлен 70 аллелями. Среднее количество аллелей на locus составило 11,7 при вариабельности размера ампликонов от 88 до 362 пар нуклеотидов. Показатель полиморфной информативности (PIC) варьировался от 0,54 для локуса CSG13 до 0,95 для локуса CSG24, демонстрируя среднее значение 0,79 (табл. 2). С учетом меньшей выборки исследуемых образцов полученные данные хорошо согласуются с результатами работы [17].

Полученные данные были подвергнуты кластерному анализу. Дендрограмма генетического подобия исследованных образцов представлена на рисунке 1 и демонстрирует крайне высокий внутрисортной полиморфизм для всех представленных образцов. Каждый исследованный генотип имеет собственный генетический профиль, который, сочетаясь некоторыми общими аллелями в различных локусах, образует соответствующие сортовые группы. Несмотря на выделенность сортовых групп, рассматривать такую систему маркеров для генетической паспортизации невозможно, поскольку нарушается принцип уникальности идентификации. Важно отметить, что высокополиморфные маркерные системы демонстрируют способность отражать определенные морфологические характеристики растений. В частности, на дендрограмме наблюдается характерная кластеризация сортовых групп по фенотипическому признаку окраски стебля. Выделяются три основные группы:

I — зеленостебельные сорта (Вера, Сурская, Надежда, Диана, Юлиана, Гентус);

II — желтостебельные разновидности (Димра, Марго, Ингрета);

III — современные сорта с промежуточным желто-зеленым окрасом стебля (Людмила, Милена, Роман).

Учитывая, что SSR-маркеры преимущественно отражают филогенетические взаимосвязи между исследуемыми образцами, наблюдаемая кластеризация сортов может быть обусловлена использованием селекционерами-оригинаторами близкородственного исходного материала. Это в значительной степени обусловлено ограниченностью генетического разнообразия доступного селекционного материала из-за существующих законодательных требований к минимальному содержанию ТГК.

Статистическая обработка данных позволила использовать комплексный подход к анализу полученных результатов. Метод кластерного анализа изначально базируется на предположении о наличии определенной структурной организации

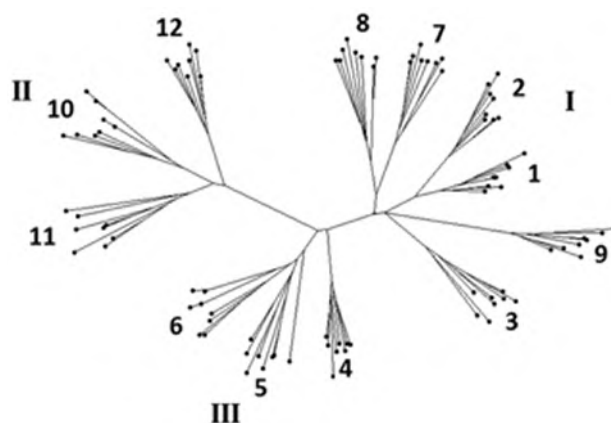
Таблица 2. Результаты оценки полиморфизма SSR-локусов у 12 сортов конопли посевной с помощью динуклеотидных маркеров

Table 2. The results of SSR-loci polymorphism in 12 varieties of *Cannabis sativa* L. using dinucleotide markers

Локус	Число аллелей	Размер аллелей (п. н.)	Частота основного аллеля	PIC
CSG01	9	202–220	0,361	0,78
CSG05	8	256–274	0,301	0,77
CSG12	21	114–208	0,167	0,89
CSG13	10	88–146	0,411	0,64
CSG18	5	192–200	0,347	0,69
CSG24	17	318–362	0,159	0,95
Среднее на locus	11,7		0,291	0,79

Рис. 1. Дендрограмма генетического подобия исследованных образцов конопли посевной, построенная по результатам SSR-анализа набором динуклеотидных маркеров. Цифрами на дендрограмме обозначены номера сортов в соответствии с таблицей 1

Fig. 1. Dendrogram of genetic similarity of the studied samples of *Cannabis sativa* L., constructed according to the results of SSR-analysis with dinucleotide markers. The numbers on the dendrogram indicate the numbers of varieties in accordance with Table 1



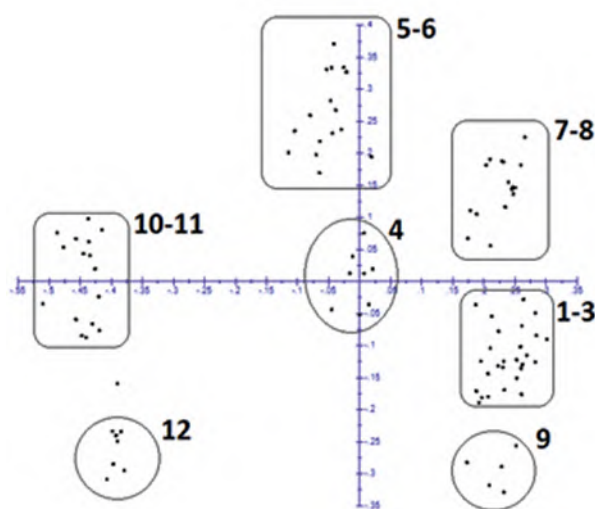
между исследуемыми объектами, независимо от характера их взаимосвязей. Метод главных компонент (Principal component analysis, PCA), как один из наиболее эффективных инструментов факторного анализа, расширяет возможности кластерного анализа; он не предполагает наличия иерархических связей между объектами и базируется на анализе корреляционных взаимосвязей между исследуемыми переменными. Результаты анализа представлены на рисунке 2.

PCA-метод позволил дополнить информацию об исследованных образцах. Факторный анализ показал, что сорта Людмила, Гентус и Ингрета (4, 9 и 12) характеризуются сортовой уникальностью. Остальные сорта образовали смешанные блоки.

Значительный интерес представляет определение полиморфных маркеров среди разработанных гексануклеотидных SSR-локусов. Всего было разработано и синтезировано 57 пар праймеров. ПЦР-амплификация с использованием этих праймеров показала полную эффективность протокола, все маркеры оказались результативными. Последующая электрофоретическая детекция и

Рис. 2. Результаты PCA-анализа набором динуклеотидных маркеров. Цифрами на дендрограмме обозначены номера сортов в соответствии с таблицей 1

Fig. 2. Results of PCA-analysis with a set of dinucleotide markers. The numbers on the dendrogram indicate the numbers of varieties in accordance with Table 1



анализ ампликонов продемонстрировали полиморфизм у 13 локусов на всех хромосомах генома. Далее из них были выбраны 10 маркеров с наибольшим уровнем полиморфизма при обязательном условии максимального охвата генома. Таким образом, для каждой из 10 хромосом было отобрано по одному полиморфному гексануклеотидному локусу, последовательности праймеров и паттерны которых приведены в таблице 3.

Молекулярно-генетическая оценка образцов конопли посевной была продолжена с применением отобранных гексануклеотидных SSR-маркеров.

Таблица 3. Характеристика отобранных гексануклеотидных SSR-маркеров, обладающих наибольшим уровнем полиморфизма

Table 3. Characteristics of selected hexanucleotide SSR markers with the highest level of polymorphism

SSR-маркер	Хромосома	Паттерн маркера	Последовательность праймеров (5'-3')
CSM4	1	(ATCAAT)5	F-CATTTTCGGGTAAGTGATTGC R-TTGTTTTTCCTTTAACAATCGAA
CSM7	2	(TTGACT)5	F-GTGAATGGGCCAAATTCAA R-GGTCTTCAAAATCCAAAGTCA
CSM13	3	(TTGACT)5	F-TTGACTTTTCCGAGAGTTGA R-CATTTTGCAAGCAAGTTCACA
CSM18	4	(AAAAAT)5	F-GGACCACATGCGTTGTTTT R-TGGATTCAAAACACATTCATCC
CSM24	5	(TTTGCC)5	F-GTCTTGGTGGTGTGGCTTT R-GATAACCTCGTGGAGGAGCA
CSM30	6	(AAAGTC)5	F-TCCCAAAGTCAAAAGTCAACC R-GAATGGGCCAAAATTCAAA
CSM31	7	(GTTTGT)6	F-TCTTTTGTCTTTGGCCCTTT R-CCCCTGAGAAGCACAACTT
CSM37	8	(CTCAGC)5	F-GGCCAGGAGTTCTTCTTCC R-GAGGAAATCTGCTGCTGCTC
CSM44	9	(GTATGT)6	F-TTTAAAGCGTCGGGAAAAC R-TCCATTACCCTACACTAATTACACA
CSM56	10	(CCAAGC)5	F-AACCCCAAAATTCAGGCTCT R-CCAGAGATGAAGACGGAGGA

Таблица 4. Результаты оценки полиморфизма SSR-локусов у 12 сортов конопли посевной с помощью гексануклеотидных маркеров

Table 4. Results of SSR-loci polymorphism assessment in 12 varieties of *Cannabis sativa* L. using hexanucleotide markers

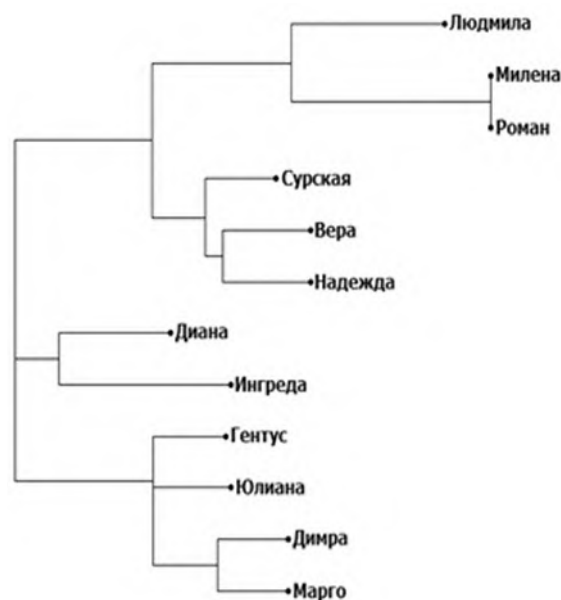
Локус	Число аллелей	Размер аллелей (п. н.)	Частота основного аллеля	PIC
CSM4	2	165–171	0,825	0,289
CSM7	2	232–238	0,56	0,493
CSM13	3	236–248	0,437	0,648
CSM18	2	190–196	0,685	0,432
CSM24	3	241–253	0,564	0,564
CSM30	3	220–232	0,665	0,467
CSM31	2	170–176	0,624	0,469
CSM37	2	199–205	0,55	0,495
CSM44	2	216–222	0,62	0,471
CSM56	2	213–218	0,815	0,302
Среднее на локус	2,3		0,635	0,463

Характеристика примененных маркеров (табл. 4) выявила 23 аллели с вариабельностью размера от 165 до 253 пар нуклеотидов. Число аллелей на локус варьировалось от 2 до 3, демонстрируя низкое значение 2,3 аллели на локус. Информационная ценность использованной системы маркеров была ограниченной. Коэффициент полиморфизма (PIC) варьировался от 0,289 (локус CSM4) до 0,648 (локус CSM13), демонстрируя среднее значение 0,463 на локус.

По результатам исследования полиморфизма образцов конопли десятью SSR-маркерами был выполнен кластерный анализ, на основании которого была построена дендрограмма генетического подобия, представленная на рисунке 3.

Рис. 3. Дендрограмма генетического подобия исследованных образцов конопли посевной, построенная по результатам SSR-анализа комплексом гексануклеотидных маркеров

Fig. 3. Dendrogram of genetic similarity of the studied samples of *Cannabis sativa* L., constructed according to the results of SSR-analysis with hexanucleotide markers



Использованный для анализа комплекс гексануклеотидных маркеров позволил дифференцировать большинство образцов исследуемой выборки на уровне сортов. Кластеризация выявила новые особенности в филогенетических отношениях исследуемых сортов конопли посевной. Сгруппированы сорта современной селекции (2020–2023 гг.) Людмила, Милена и Роман. Милена и Роман (оригинатор ООО «Коноплекс») данным комплексом маркеров не разделяются, что говорит о необходимости дальнейшего поиска стабильных дифференцирующих маркеров. Сорта Сурская, Вера и Надежда совместной селекции ФНЦ ЛК и ООО «Коноплекс» составили отдельную группу. Парно сгруппированы старые сорта Диана и Ингеда селекции ФНЦ ЛК и ФАНЦ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого. Последний кластер образуют сорта Гентус, Юлиана, Димра и Марго совместной разработки ФАНЦ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого и КФХ Пономаренко А.И.

Выводы/Conclusions

В ходе проведенного исследования был определен высокий уровень внутрисортного полиморфизма конопли посевной, что ограничивает использование высокополиморфных маркерных систем генетической паспортизации. Комбинация кластерного анализа и метода главных компонент позволила более объективно рассмотреть уровень генетического разнообразия образцов

исследованной выборки. Выявленные филогенетические связи между сортами указывают на узость генетического разнообразия используемого селекционного материала. По результатам исследования разработан комплекс из 10 гексануклеотидных SSR-маркеров, охватывающих все хромосомы генома. Учитывая ограничения глубины анализа, данный комплекс позволил дифференцировать большинство образцов на уровне сортов и может быть использован в качестве основы для молекулярно-генетической паспортизации.

Использованный подход к молекулярно-генетической паспортизации конопли посевной на основе гексануклеотидных SSR-маркеров является перспективным. Разработанный комплекс маркеров повышает стабильность дифференциации сортов и может применяться для развития селекционной работы на этой важной сельскохозяйственной культуре. Результаты исследования имеют практическое значение для селекционной работы, защиты прав селекционеров, контроля подлинности посевного материала и сохранения генетических ресурсов конопли посевной.

Дальнейшие исследования должны быть направлены на расширение комплекса маркеров и повышение их информативности, а также на изучение возможности применения разработанных маркеров для других экотипов конопли посевной.

Все авторы несут ответственность за работу и представленные данные. Все авторы внесли равный вклад в работу. Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Авторы объявили об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data. All authors made an equal contribution to the work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism. The authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России по теме FGSS-2024-0002.

FUNDING

Scientific research was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on topic FGSS-2024-0002.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Gedik G., Avinc O. Hemp Usage in Textile Industry. Belwal T., Belwal N.C. (eds.). Revolutionizing the Potential of Hemp and Its Products in Changing the Global Economy. Cham: Springer. 2022; 69–95. https://doi.org/10.1007/978-3-031-05144-9_4
- Ahmed A.T.M.F., Islam M.Z., Mahmud M.S., Sarker M.E., Islam M.R. Hempas a potential raw material toward a sustainable world: A review. *Heliyon*. 2022; 8(1): e08753. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08753>
- Danielewicz D. Industrial Hemp as a Potential Nonwood Source of Fibres for European Industrial-Scale Papermaking—A Review. *Materials*. 2023; 16(19): 6548. <https://doi.org/10.3390/ma16196548>
- Senthilkumar K. et al. Performance of Sisal/Hemp Bio-based Epoxy Composites Under Accelerated Weathering. *Journal of Polymers and the Environment*. 2021; 29(2): 624–636. <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01904-7>
- Xu J., Bai M., Song H., Yang L., Zhu D., Liu H. Hemp (*Cannabis sativa* subsp. *sativa*) Chemical Composition and the Application of Hempseeds in Food Formulations. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2022; 77(4): 504–513. <https://doi.org/10.1007/s11130-022-01013-x>
- Rehman M. et al. Evaluation of hemp (*Cannabis sativa* L.) as an industrial crop: a review. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021; 28(38): 52832–52843. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16264-5>
- Ioannidis K., Tomprou I., Mitsis V. An Alternative In Vitro Propagation Protocol of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae) Presenting Efficient Rooting, for Commercial Production. *Plants*. 2022; 11(10): 1333. <https://doi.org/10.3390/plants11101333>

REFERENCES

- Gedik G., Avinc O. Hemp Usage in Textile Industry. Belwal T., Belwal N.C. (eds.). Revolutionizing the Potential of Hemp and Its Products in Changing the Global Economy. Cham: Springer. 2022; 69–95. https://doi.org/10.1007/978-3-031-05144-9_4
- Ahmed A.T.M.F., Islam M.Z., Mahmud M.S., Sarker M.E., Islam M.R. Hempas a potential raw material toward a sustainable world: A review. *Heliyon*. 2022; 8(1): e08753. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08753>
- Danielewicz D. Industrial Hemp as a Potential Nonwood Source of Fibres for European Industrial-Scale Papermaking—A Review. *Materials*. 2023; 16(19): 6548. <https://doi.org/10.3390/ma16196548>
- Senthilkumar K. et al. Performance of Sisal/Hemp Bio-based Epoxy Composites Under Accelerated Weathering. *Journal of Polymers and the Environment*. 2021; 29(2): 624–636. <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01904-7>
- Xu J., Bai M., Song H., Yang L., Zhu D., Liu H. Hemp (*Cannabis sativa* subsp. *sativa*) Chemical Composition and the Application of Hempseeds in Food Formulations. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2022; 77(4): 504–513. <https://doi.org/10.1007/s11130-022-01013-x>
- Rehman M. et al. Evaluation of hemp (*Cannabis sativa* L.) as an industrial crop: a review. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021; 28(38): 52832–52843. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16264-5>
- Ioannidis K., Tomprou I., Mitsis V. An Alternative In Vitro Propagation Protocol of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae) Presenting Efficient Rooting, for Commercial Production. *Plants*. 2022; 11(10): 1333. <https://doi.org/10.3390/plants11101333>

8. Alsaleh A., Yilmaz G. Exploring cannabidiol variations, investigation of genetic diversity, population structure and unveiling male-specific genetic marker in industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2025; 72(1): 797–814. <https://doi.org/10.1007/s10722-024-02015-1>
9. Канукова К.Р., Газаев И.Х., Сабанчиева Л.К., Боготова З.И., Аппаев С.П. ДНК-маркеры в растениеводстве. *Известия Кабардино-Балкарского научного центра РАН*. 2019; (6): 220–232. <https://doi.org/10.35330/1991-6639-2019-6-92-220-232>
10. Srivastava S. et. al. Microsatellite markers for crop improvement: A review. *Journal of Applied and Natural Science*. 2023; 15(3): 1018–1035. <https://doi.org/10.31018/jans.v15i3.4615>
11. Zhang J. et. al. Genetic Diversity and Population Structure of *Cannabis* Based on the Genome-Wide Development of Simple Sequence Repeat Markers. *Frontiers in Genetics*. 2020; 11: 958. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00958>
12. Базанов Т.А., Ушаповский И.В., Логинова Н.Н., Смирнова Е.В., Михайлова П.Д. Анализ индивидуальной изменчивости сорто-образцов конопли посевной (*Cannabis sativa* L.) с использованием SSR и SCAR маркеров. *Аграрная наука*. 2020; (10): 68–72. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-342-10-68-72>
13. Onofri C., Mandolino G. Genomics and Molecular Markers in *Cannabis sativa* L. Chandra S., Lata, H., ElSohly M. (eds.). *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology. Cham: Springer. 2017; 319–342. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6_15
14. Levinson G., Gutman G.A. Slipped-Strand Mispairing: A Major Mechanism for DNA Sequence Evolution. *Molecular Biology and Evolution*. 1987; 4(3): 203–221. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040442>
15. Schafleitner R. Molecular Marker Resources and Their Application. Nair R., Schafleitner R., Lee SH. (eds.). *The Mungbean Genome. Compendium of Plant Genomes*. Cham: Springer. 2020; 107–124. https://doi.org/10.1007/978-3-030-20008-4_8
16. Singh A.K. Discovery and Role of Molecular Markers Involved in Gene Mapping, Molecular Breeding, and Genetic Diversity. Hakeem K., Malik A., Vardar-Sukan F., Ozturk M. (eds.). *Plant Bioinformatics. Decoding the Phyta*. Cham: Springer. 2017; 303–328. https://doi.org/10.1007/978-3-319-67156-7_12
17. Benkirane C. et al. Population structure and genetic diversity of Moroccan cannabis (*Cannabis sativa* L.) germplasm through simple sequence repeat (SSR) analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2024; 71(5): 2037–2051. <https://doi.org/10.1007/s10722-023-01754-x>
18. Du L., Chen J., Sun D., Zhao K., Zeng Q., Yang N. Krait2: a versatile software for microsatellite investigation, visualization and marker development. *BMC Genomics*. 2025; 26: 72. <https://doi.org/10.1186/s12864-025-11252-2>

ОБ АВТОРАХ

Тарас Александрович Базанов

кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией
t.bazanov@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9544-5528>

Игорь Валентинович Ушаповский

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заместитель директора по науке
i.uschapovsky@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0602-1211>

Наталья Николаевна Логинова

научный сотрудник
n.loginova@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4633-392X>

Екатерина Витальевна Минина

младший научный сотрудник
ev.smirnova@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6559-9577>

Полина Дмитриевна Вересова

младший научный сотрудник
p.mikhaylova@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7797-2578>

Федеральный научный центр лубяных культур,
Комсомольский проспект, 17/56, Тверь, 170041, Россия

8. Alsaleh A., Yilmaz G. Exploring cannabidiol variations, investigation of genetic diversity, population structure and unveiling male-specific genetic marker in industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2025; 72(1): 797–814. <https://doi.org/10.1007/s10722-024-02015-1>

9. Kanukova K.R., Gazaev I.H., Sabanchieva L.K., Bogotova Z.I., Appaev S.P. DNA markers in crop production. *News of Kabardino-Balkar scientific center of RAS*. 2019; (6): 220–232 (in Russian). <https://doi.org/10.35330/1991-6639-2019-6-92-220-232>

10. Srivastava S. et. al. Microsatellite markers for crop improvement: A review. *Journal of Applied and Natural Science*. 2023; 15(3): 1018–1035. <https://doi.org/10.31018/jans.v15i3.4615>

11. Zhang J. et. al. Genetic Diversity and Population Structure of *Cannabis* Based on the Genome-Wide Development of Simple Sequence Repeat Markers. *Frontiers in Genetics*. 2020; 11: 958. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00958>

12. Bazanov T.A., Uschapovsky I.V., Loginova N.N., Smirnova E.V., Mikhailova P.D. Analysis of the individual variability of hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars using SSR and SCAR markers. *Agrarian science*. 2020; (10): 68–72 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-342-10-68-72>

13. Onofri C., Mandolino G. Genomics and Molecular Markers in *Cannabis sativa* L. Chandra S., Lata, H., ElSohly M. (eds.). *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology. Cham: Springer. 2017; 319–342. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6_15

14. Levinson G., Gutman G.A. Slipped-Strand Mispairing: A Major Mechanism for DNA Sequence Evolution. *Molecular Biology and Evolution*. 1987; 4(3): 203–221. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040442>

15. Schafleitner R. Molecular Marker Resources and Their Application. Nair R., Schafleitner R., Lee SH. (eds.). *The Mungbean Genome. Compendium of Plant Genomes*. Cham: Springer. 2020; 107–124. https://doi.org/10.1007/978-3-030-20008-4_8

16. Singh A.K. Discovery and Role of Molecular Markers Involved in Gene Mapping, Molecular Breeding, and Genetic Diversity. Hakeem K., Malik A., Vardar-Sukan F., Ozturk M. (eds.). *Plant Bioinformatics. Decoding the Phyta*. Cham: Springer. 2017; 303–328. https://doi.org/10.1007/978-3-319-67156-7_12

17. Benkirane C. et al. Population structure and genetic diversity of Moroccan cannabis (*Cannabis sativa* L.) germplasm through simple sequence repeat (SSR) analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2024; 71(5): 2037–2051. <https://doi.org/10.1007/s10722-023-01754-x>

18. Du L., Chen J., Sun D., Zhao K., Zeng Q., Yang N. Krait2: a versatile software for microsatellite investigation, visualization and marker development. *BMC Genomics*. 2025; 26: 72. <https://doi.org/10.1186/s12864-025-11252-2>

ABOUT THE AUTHORS

Taras Aleksandrovich Bazanov

Candidate in Chemical Sciences,
Leading researcher, head of the laboratory
t.bazanov@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9544-5528>

Igor Valentinovich Ushapovsky

Candidate in Biological Sciences,
Leading researcher, deputy director for science
i.uschapovsky@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0602-1211>

Natalya Nikolaevna Loginova

Researcher
n.loginova@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4633-392X>

Ekaterina Vitalievna Minina

Junior researcher
ev.smirnova@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6559-9577>

Polina Dmitrievna Veresova

Junior researcher
p.mikhaylova@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7797-2578>

Federal Research Center for Bast Fiber Crops,
17/56 Komsomolsky Ave., Tver, 170041, Russia