

VSEBNOST KOMPONENT ETERIČNEGA OLJA V RAZLIČNIH FENOTIPIH NAVADNE KONOPLJE (*Cannabis sativa* L.)

Marjeta ERŽEN¹, Iztok Jože KOŠIR², Miha OCVRK³, Samo KREFT⁴ in Andreja ČERENAK⁵

Izvirni znanstveni članek / Original scientific article

Prispelo / Arrived: 25. 10. 2024

Sprejeto / Accepted: 4. 12. 2024

Izvleček

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je glede na humano uporabo ena najstarejših rastlin na svetu. Poleg glavne skupine sekundarnih metabolitov - kanabinoidov vsebuje tudi drugo pomembno skupino, in sicer komponente eteričnega olja, katerih sinteza se vrši v glandularnih trihomih večinoma v ženskih socvetjih rastlin konoplje. V naši raziskavi smo preučevali enajst različnih fenotipov znotraj treh različnih sort navadne konoplje (CS, Tiborszallasi in selekcija Finole) na podlagi vsebnosti eteričnega olja (EO). Fenotipe smo določili na podlagi vizualnih lastnosti posameznih rastlin. Z metodo GC-FID smo določili osem glavnih komponent EO in na podlagi analize izvedli statistično analizo ANOVA in analizo PCA. Fenotipa CI in CII sorte CS sta se značilno razlikovala po vsebnosti monoterpenov in seskviterpenov, vsebnost mircena je bila najvišja pri fenotipu TI (29,9 rel. %), vsebnost α -pinena je bila najvišja pri fenotipu TIV (11,9 rel. %). Najvišjo vsebnost β -kariofilena je imel fenotip CI (21,3 rel. %), najvišjo vsebnost α -humulena pa je imel fenotip CI (8,8 rel. %). Z analizo PCA smo lahko glede na povprečne vsebnosti komponent eteričnega olja na podlagi vseh treh sort ločili posamezne sorte med seboj ter fenotipa znotraj sorte CS. Z analizo posameznih sort smo lahko znotraj sorte ločili le fenotipa sorte CS, medtem ko fenotipov znotraj ostalih dveh sort ni bilo mogoče ločiti.

Gljučne besede: konoplja, kanabinoidi, eterična olja, fenotipi, *Cannabis sativa*

COMPONENTS OF ESSENTIAL OILS IN DIFFERENT HEMP (*Cannabis sativa* L.) PHENOTYPES

Abstract

Hemp (*Cannabis sativa* L.), one of the oldest plants used by humankind in the world, in addition to the main group of secondary metabolites - cannabinoids, also contains the second most important group, namely components of essential oil.

¹ Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS), e-pošta: marjeta.erzen@ihps.si

² Izr. prof. dr., IHPS, e-pošta: iztok.kosir@ihps.si

³ Dr., IHPS, e-pošta: miha.ocvirk@ihps.si

⁴ Prof. dr., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, e-pošta: samo.kreft@ffa.uni-lj.si

⁵ Izr. prof. dr., IHPS, e-pošta: andreja.cerenak@ihps.si

The synthesis of these components occurs in glandular trichomes, mostly in the female flowers of hemp plants. In our research, we examined 11 different phenotypes within three different varieties of industrial hemp (CS, Tiborszallasi, and Finola selection), based on the content of essential oil (EO). Phenotypes were determined based on the visual characteristics of individual plants. Using the GC-FID method, we identified 8 main EO components and conducted statistical analysis ANOVA and PCA. The CI and CII phenotypes of CS variety differed significantly in the content of monoterpenes and sesquiterpenes. The content of myrcene was highest in the TI phenotype (29.9 rel. %), the content of α -pinene was highest in the TIV phenotype (11.9 rel. %), the highest content of β -caryophyllene was in the CI phenotype (21.3 rel. %), and the highest content of α -humulene was in the CI phenotype (8.8 rel. %). Through PCA analysis, we were able to separate individual varieties based on the average contents of component of essential oils across all three varieties and distinguish phenotypes within the CS variety. Analyzing individual varieties, we could also distinguish only the phenotypes of the CS variety, while phenotypes within the other two varieties could not be separated.

Key words: Hemp, cannabinoids, essential oils, phenotypes, *Cannabis sativa*

1 UVOD

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je znana zaradi svoje vsestranske uporabnosti, saj se jo uporablja tako v prehrani ljudi in živali kot tudi v medicini ter gradbeništvu, kot vir vlaknin za vrvi. Je enoletna, dvodomna rastlina, lahko pa se pojavijo tudi enodomne sorte (Hillig, 2005). Rastlina konoplje lahko zraste tudi do 5 m v višino, njeni rastni pogoji pa so močno okoljsko pogojeni (Raman in sod., 2017). Konoplja je najbolj znana predvsem zaradi vsebnosti kanabinoidov in komponent eteričnega olja (EO), ki se večinoma nahajajo v neoplojenih ženskih socvetjih, natančneje v glandularnih trihomih, ki so primarne strukture za sintezo teh sekundarnih metabolitov (Raman in sod., 2017).

EO so druga najbolj zastopana skupina sekundarnih metabolitov v konoplji in skupaj s kanabinoidi delujejo sinergistično (Namdar in sod., 2018). Komponente EO dajejo rastlini aromo, jo ščitijo pred patogeni in škodljivci, imajo vlogo privabljanja opaševalcev ter imajo pozitivne učinke na zdravje (Nuutinen, 2018a).

Sestava EO je fenotipsko pogojena in se v različnih sortah različno sintetizira. V trihomih se nahaja od 2 % do 20 % EO, z žlahtniteljskimi pristopi pa se ta odstotek lahko še poveča (Potter, 2009).

Terpene, ki predstavljajo večino komponent EO, delimo na dve glavni skupini, in sicer na monoterpene in seskviterpene. Monoterpeni nastajajo preko prekursorja geranil pirofosfat (GPP) in metileritritol fosfatne poti (MEP), seskviterpeni pa nastajajo po mevalonatni poti (MEV) s prekursorjem farnezil pirofosfatom (FPP) (Booth in sod., 2017; Booth in Bohlmann, 2019). Najpogostejši monoterpeni v konoplji so limonen, β -mircen, α -pinen in linalol, najpogostejši seskviterpeni pa E-kariofilen, kariofilen oksid, E- β -farnezen in β -kariofilen (Sommano in sod., 2020).

Mircen ima antioksidativni in antikarcenogen učinek, rastlini pa daje vonj po hmelju, α -pinen in β -pinen pozitivno delujeta na kognitivne zmožnosti, ki jih povzroča

negativni učinek THC (tetrahidrokanabidiol) ter delujeta antiseptično, rastlini pa dajeta vonj po borovcu. Limonen deluje protistresno in zvišuje vsebnost serotonina in dopamina, β -kariofilen pa deluje protivnetno, protibolečinsko, antikarcenogeno, protiglivično, gastroprotektivno, antibakterijsko, antioksidativno, neuroprotektivno, antiproliferativno in kot antidepresant (Sommano in sod., 2020).

Pojav različnih fenotipov znotraj sort konoplje je pogost pojav, zlasti ker so sorte večinoma dvodomne in prihaja do večje heterogenosti znotraj populacije (Small and Antle, 2003).

V naši raziskavi smo želeli ugotoviti, ali na kemijskem nivoju, natančneje na podlagi vsebnosti EO, obstajajo razlike, ki so vidne na fenotipskem nivoju. V ta namen smo analizirali enajst različnih fenotipov pri treh različnih sortah navadne konoplje. Poleg fenotipizacije sort na podlagi EO, smo želeli preučiti, ali kateri od 11 fenotipov vsebuje statistično višjo vsebnost enega izmed preučevanih komponent EO in je zaradi tega lahko bolj zanimiv za uporabo v zdravstvu.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Rastlinski material in zasnova poskusa

V raziskavi smo uporabili tri različne sorte konoplje in sicer sorti Carmagnola selected (CS) in Tiborszallasi ter selekcijo Finole. Sorti CS in Tiborszallasi sta bili posejani na lokaciji Ljubno ob Savinji na njivi velikosti 1080 m². Setev je potekala v začetku meseca julija leta 2019. Seme je bilo posejano s poskusno sejalnico Wintersteiger na medvrstno razdaljo 75 cm. Selekcijo Finole smo konec maja 2019, prav tako s poskusno sejalnico Wintersteiger, posejali na lokaciji Žalec na parceli velikosti 3 ha, z medvrstno razdaljo 75 cm. Rastline konoplje smo spremljali skozi celotno rastno dobo, odstranjevali moške rastline ter ob koncu rastne dobe (v času tehnološke zrelosti socvetij) na podlagi vizualnih lastnosti (velikost rastline, barva rastline, razvejanost rastline, dolžina in kompaktnost socvetij, velikost listov in antociansko obarvanje listnih pecljev) znotraj vsake sorte določili fenotipe. Pri sorti CS smo določili dva fenotipa (CI in CII), pri sorti Tiborszallasi pet fenotipov (TI, TII, TIII, TIV, TV) in pri selekciji Finole štiri fenotipe (FI, FII, FIII, FIV). Rastline so zacvetele konec avgusta, vzorčili pa smo jih konec septembra oz. v začetku oktobra, ko se je večina pestičev obarvala rjavo). Na posamezen fenotip smo vzorčili socvetja desetih rastlin (5 - 8 socvetij na rastlino). Med rastno dobo smo dvakrat mehansko zatirali plevela (ročno in z motokultivatorjem), posevek ni bil dodatno gnojen in namakan, prav tako ni bilo uporabe fitofarmacevtskih sredstev.

2.2 Priprava vzorcev

Vzorčena socvetja smo sušili v sušilnici pri temperaturi 30 °C. Pred začetkom izvedbe kemijskih analiz smo zmrznjene vzorce zmleli s kavnim mlinčkom (30 – 50 g).

2.3 Določanje vsebnosti in sestave eteričnega olja

Socvetja fenotipov (27 – 30 g) smo parno destilirali z nastavki po Clevengerju. Destilacija je potekala 3 ure v 1 L destilirane vode. Pri vsakem fenotipu smo analizirali 5 različnih rastlin. Količino EO smo odčitali iz Clevengerjeve aparature. Sestavo EO pa smo določili s plinsko kromatografijo s plamensko ionizacijskim detektorjem (GC-FID) (Agilent Technologies Inc., serija 6890, ZDA). Zbrano EO smo redčili z 1 mL heksana (Sigma Aldrich, ZDA). Za GC- FID smo uporabili HP 1 kapilarno kolono velikosti 25 m × 0,2 mm × 0,1 µm (Hewlett Packard, ZDA). Pretok nosilnega plina (helij 5,0 (GTG plini, Slovenija)) je bil 0,5 mL/min. 1 µL raztopine smo injicirali v injektor s temperaturo 180 °C, pri temperaturnem programu detektorja 3,5 minute pri 60 °C, 3,5 °C/min do 155 °C in 30 °C/min do 300 °C. Detekcija je potekala na plamensko ionizacijskem detektorju pri 300 °C. Celoten temperaturni program je trajal 42 min in 47 s. Komponente smo identificirali na podlagi primerjave retencijskih časov standardov. Podatke smo obdelali v programu ChemStation za GC (Agilent Technologies, ZDA). Določili smo skupno osem različnih komponent EO. Vsebnosti komponent smo podali kot relativni delež (rel. %).

2.4 Statistična analiza

Statistično analizo podatkov vsebnosti in sestave EO smo izvedli s tremi programi. Metodo glavni osi EO smo izvedli v programu OriginPro 2021 (OriginLab Corporation, ZDA), podatke smo razvrstili glede na prvi dve osi. Za izvedbo multifaktorske ANOVA-e z uporabo Duncanovega testa smo uporabili program Statgraphics Centurion Software 19.4.04 (Stataphics Technologies, Inc. ZDA). Povprečja, standardni odkloni in druge osnovne statistične analize smo izvedli v programu Microsoft Excel.

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

3.1 Vizualno razlikovanje fenotipov konoplje

Pri vseh treh sortah smo skupno odbrali 11 različnih fenotipov. V preglednici 1 so prikazani posamezni fenotipi ter razlike med njimi na podlagi vizualnih lastnosti.

Preglednica 1: Izbrani fenotipi treh različnih sort konoplje (CS, Tiborszallasi in selekcija Finole) ter razlike med njimi na podlagi šestih različnih vizualnih lastnosti. Za vsako sorto je dodan referenčni tip.

Fenotip	Velikost	Barva rastline	Velikost listov	Socvetje	Antociansko obarvanje listnega peclja	Razvejanost
Carmagnola selected (CS)						
CI	Visoka	Svetla	Velika	Majhno	Ne	***
CII	Visoka	Temna	Majhna	Majhno	Da	*****
Referenca po UPOV	Visoka	Temna	Srednja	-	Srednje	-
Tiborszallasi						
TI	Visoka	Srednje	Srednja	Majhno	Ne	*****
TII	Srednje	Temna	Srednja	Srednje	Da	***
TIII	Majhna	Temna	Majhna	Srednje	Da	**
TIV	Srednje	Temna	Velika	Velika	Ne	***
TV	Majhna	Srednje	Majhna	Srednje	Da	*
Referenca po UPOV	Visoka	Temna	-	-	-	*****
Selekcija Finole						
FI	Visoka	Temna	Srednje	Velika	Ne	*****
FII	Srednje	Srednje	Srednje	Velika	Ne	***
FIII	Srednje	Svetla	Srednje	Srednje	Da	*****
FIV	Srednje	Temna	Srednje	Velika	Da	*****
Referenca po UPOV	Majhna	Srednje	Majhna-srednja	-	Ne	***

Legenda: Velikost: primerjava višine znotraj fenotipov za vsako sorto posebej; Barva rastline: svetla, srednje zelena ali temno zelena; Razvejanost: *-zelo malo razvejana, *****-zelo razvejana

Iz preglednice 1 je razvidna razlika med posameznimi fenotipi na podlagi vizualnih lastnosti. Konoplja je ena od rastlinskih vrst, pri kateri se znotraj posamezne sorte lahko pojavijo številni fenotipi, kar je vzrok tujeprašnosti vrste ter populacijskih sort. Konoplja se oprašuje navzkrižno, kar je lahko pogosto vzrok za pojav genetsko neizenačenih sort, kot posledica heterozigotnosti pa se pojavijo številni fenotipi (Barcaccia in sod., 2020). Zaradi vseh teh lastnosti so danes novejšje sorte večinoma razmnožene s klonsko selekcijo (Sawler in sod., 2015), žlahtnjenje konoplje pa je vse bolj ciljno usmerjeno v določene lastnosti, kot so višja vsebnost

določenega kanabinoida ali terpena, kombinacije določenih komponent ipd., saj s tem pridobimo večjo homogenost sort (Ranalli, 2004). S tem lahko tudi lažje razvrščamo različne sorte v skupino glede na določene lastnosti, kot so: uporabnost konoplje, taksonomska opredelitev ter opredelitev glede na domestifikacijo sort (Pieracci in sod., 2021).

3.2 Določanje vsebnosti in sestave eteričnega olja

V preglednici 2 so predstavljene vsebnosti EO pri posameznih fenotipih, podane so v mL/100 g suhega socvetja. Najvišje vsebnosti EO smo določili pri fenotipih selekcije Finola (2,59 – 3,11 mL/100 g suhega socvetja), najnižjo vsebnost pa pri fenotipu CI pri sorti CS (0,23 mL/100 g suhega socvetja).

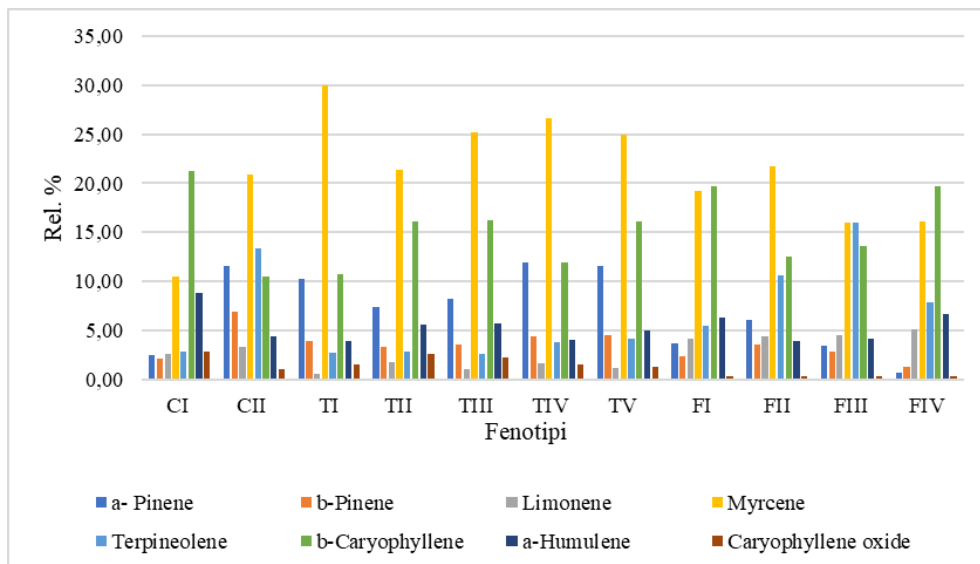
Preglednica 2: Vsebnost eteričnega olja (mL/100 g suhega socvetja) pri različnih fenotipih sort CS, Tiborszallasi in selekcije Finola, vrednosti standardnega odklona ter p-vrednosti med posameznimi fenotipi.

Fenotip	Vsebnost eteričnega olja (mL/100 g suhega socvetja)	SD (mL/100 g suhega socvetja)
CI	0,23 ^a	0,10
CII	0,53 ^b	0,16
TI	0,58 ^{ab}	0,23
TII	0,39 ^a	0,00
TIII	0,52 ^{ab}	0,16
TIV	0,64 ^b	0,22
TV	0,56 ^{ab}	0,17
FI	2,75 ^{ab}	0,33
FII	3,11 ^b	0,23
FIII	2,82 ^{ab}	0,41
FIV	2,59 ^a	0,38

Z analizo ANOVA smo ugotovili, da se na podlagi vsebnosti EO znotraj sorte razlikujeta fenotipa sorte CS, fenotipa TII in TIV ter fenotipa FII in FIV.

Na vsebnost EO vplivajo različni dejavniki: genotip, fenofaza v času spravila, enodomnost/dvodomnost, procesni postopek, gostota rastlin, agrotehnika, skladiščne razmere (Pieracci in sod., 2021). V naši raziskavi smo uporabili sorte, ki so bile dvodomne. Bertoli in sod. (2010) so ugotovili, da imajo dvodomne sorte višje vsebnosti EO kot enodomne.

Na sliki 1 so prikazane vsebnosti osmih najbolj zastopanih komponent EO v vseh preučevanih fenotipih.



Slika 1: Vsebnost osmih najbolj zastopanih komponent EO (rel. %) v različnih fenotipih konoplje sort Carmagnola selected (CI in CII), Tiborszallasi (TI, TII, TIII, TIV, TV) in selekcije Finola (FI, FII, FIII, FIV).

Pri vseh treh sortah so bile najbolj zastopane komponente EO mircen, β -kariofilen, α -pinen in α -humulen. Vsebnost monoterpenov je bila pri vseh treh sortah višja kot vsebnost seskviterpenov. Znano je, da so tudi pri drugih rastlinskih vrstah monoterpeni bolj zastopani od seskviterpenov (Bertoli in sod., 2010). Vsebnost mircena je bila najvišja pri fenotipu TI (29,9 rel. %), najvišja vsebnost α -pinena je bila pri fenotipu TIV (11,9 rel. %), najvišjo vsebnost β -kariofilena je imel fenotip CI (21,3 rel. %), najvišjo vsebnost α -humulena pa je imel fenotip CI (8,8 rel. %). Glede na druge študije so bile ugotovitve zastopanosti najpogostejših komponent EO podobne. Nissen in sod., 2010 so ugotovili najvišje vsebnosti mircena (12,5–29,2 %), α -pinena (15,1 - 17,0 %), β -pinena (6,4–9,3 %), β -kariofilena (10,6–14,0 %) in α -humulena (4,8–6,7 %). Vuerich in sod. (2019) navajajo pri sortah Fedora, Futura in Ferimon višje vsebnosti seskviterpenov z najvišjimi vsebnostmi β -kariofilena (20,8–21,6 %), α -pinena (10,1–11,5 %) in α -humulena (8,7–9,1 %), Bertoli in sod. (2010) pa so ugotovili najvišje vsebnosti mircena (16,0–22,0 %), terpineolena (10,3–11,7 %) in β -kariofilena (15,2–22,9 %).

Fenotipa znotraj sorte CS sta se razlikovala na podlagi več komponent. Fenotip CII je dosegel višjo vsebnost glavnih monoterpenov, medtem ko je imel fenotip CI višjo vsebnost glavnih seskviterpenov. Prav tako sta se razlikovala na podlagi vsebnosti naslednjih komponent: α -pinena, β -pinena, β -kariofilena, α -humulena in kariofilen oksida. Fenotipi sorte Tiborszallasi so se najbolj razlikovali pri vsebnosti kariofilen oksida. Med sortami pa imajo fenotipi selekcije Finola višje vsebnosti limonena v primerjavi z ostalimi sortami.

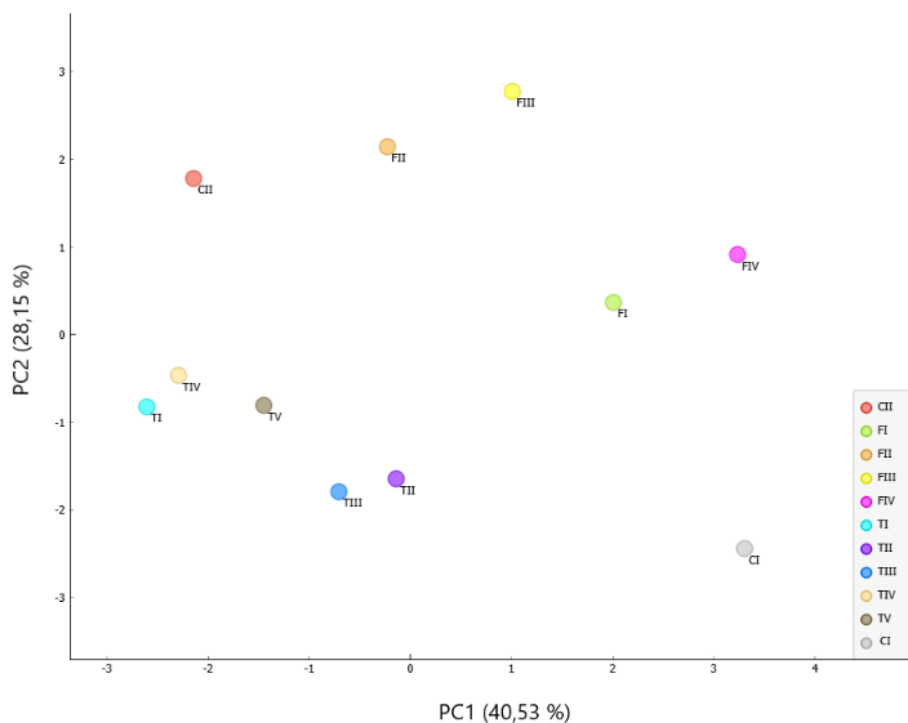
Komponente EO kot podskupina sekundarnih metabolitov imajo številne pozitivne učinke na zdravje. Med drugimi komponente, kot so mircen, β -kariofilen, kariofilen

oksid, α -humulen, α -pinen, linalol, limonen, terpineolen, γ -terpinen, nerolidol, borneol, fenhol in β -eudesmol delujejo protivnetno, β -kariofilen, pozitivno delujejo pri zdravljenju raka. Prav tako ima β -kariofilen skupaj z α -humulenom sinergističen učinek pri zdravljenju raka. Iso-kariofilen, α -humulen, α -pinen in linalol imajo pozitivne učinke pri zdravljenju tumorjev (Lewis in sod., 2018; Russo and Marcu, 2017).

V naši raziskavi imajo visoko vsebnost kariofilen oksida fenotipi sort CS in Tiborszallasi, ta pa ima pozitivne učinke na zdravljenje kardiovaskularnih bolezni, hipertenzije in diabetesa tipov I on II (Mudge in sod., 2019; Nuutinen, 2018b). Na zdravljenje diabetesa prav tako pozitivno vpliva β -pinen, poleg tega pa ima pozitivne učinke za zdravljenje debelosti, raka in drugih kroničnih bolezni.

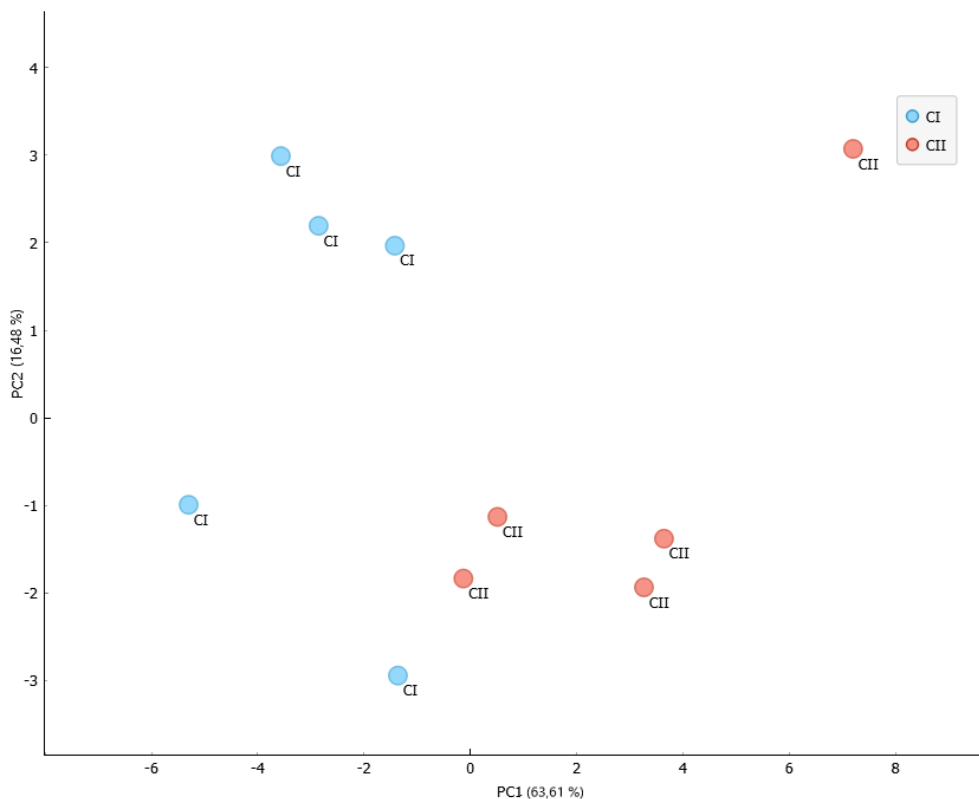
Najvišjo vsebnost β -pinena je imel v naši raziskavi fenotip CII. Linalol, terpineolen in mircen delujejo sedativno, humulen in limonen imata pozitiven učinek na zdravljenje depresije, β -eudesmol pa pozitivno vpliva na povečanje apetita (Nuutinen, 2018b). Komponente EO pozitivno vplivajo tudi na zdravljenje bolezni COVID-19 (Orlando in sod., 2021).

Za ugotavljanje razlik med fenotipi na podlagi vsebnosti komponent EO smo z metodo PCA primerjali povprečja posameznih fenotipov, pri čemer smo kot vhodne podatke uporabili osem različnih komponent EO pri vseh treh preučevanih sortah v naši raziskavi. S slike 2 je razvidno, da glavna os PC1 pojasni 40,53 %, glavna os PC2 pa 28,15 % variance. Skupna varianca je 68,68 %. Z analizo PCA smo ugotovili, da se sorte na podlagi komponent EO med sabo razlikujejo, medtem ko se fenotipa znotraj sort razlikujeta le pri sorti CS, fenotipov pri ostalih dveh sortah ni bilo mogoče ločiti med sabo, kar nakazuje na večjo uniformnost vsebnosti EO pri omenjenih dveh sortah.



Slika 2: Graf metode glavnih osi (PCA) glede na posamezna povprečja fenotipov in povprečne deleže komponent eteričnega olja pri sortah CS, Tiborszallasi in selekciji Finole. Graf prikazuje razporeditev vzorcev v ravnini prvih dveh osi (PC1 pojasni 40,53 %, PC2 pojasni 28,15 %). Skupna varianca je 68,68 %.

Vsako preučevano sorto smo z metodo PCA analizirali še posamezno. Dokazali smo, da se znotraj sorte, kljub analizi posamezne sorte razlikujeta le fenotipa sorte CS (slika 3), medtem ko fenotipov pri sortah Tiborszallasi in selekcije Finola ni bilo mogoče ločiti med sabo.



Slika 3: Graf metode glavnih osi (PCA) glede na posamezna povprečja fenotipov in povprečne deleže komponent eteričnega olja pri sorti CS. Graf prikazuje razporeditev vzorcev v ravnini prvih dveh osi (PC1 pojasni 63,61%, PC2 pojasni 16,48 %). Skupna varianca je 80,09 %.

4 ZAKLJUČEK

V raziskavi smo primerjali različne fenotipe znotraj treh različnih sort na podlagi osmih različnih komponent EO. Po našem vedenju gre za prvo takšno študijo do sedaj, kjer se preučuje različne fenotipe sort glede na EO. Ugotovili smo, da se znotraj sort med sabo razlikujeta le fenotipa sorte CS, medtem ko fenotipov znotraj sorte Tiborszallasi in selekcije Finola ni bilo mogoče razlikovati. Pri sorti CS sta se fenotipa na podlagi analize ANOVA razlikovala tudi v skupni vsebnosti monoterpenov in seskviterpenov. Selekcija Finole se je od ostalih dveh sort razlikovala po višji vsebnosti limonena. Glede na vsebnosti EO pri posameznih kanabinoidih bi bilo v nadaljevanju smiselno selekcionirati fenotipe, ki imajo željene višje vsebnosti določenih komponent EO ter v kombinaciji s kanabinoidi pridobiti novo sorto, ki bi imela primerno razmerje za zdravljenje določenih bolezni.

5 VIRI

- B Barcaccia, G., Palumbo, F., Scariolo, F., Vannozzi, A., Borin, M., Bona, S., 2020. [Potentials and Challenges of Genomics for Breeding Cannabis Cultivars](https://doi.org/10.3389/fpls.2020.573299). Front Plant Sci. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.573299>
- Bertoli, A., Tozzi, S., Pistelli, L., Angelini, L.G., 2010. [Fibre hemp inflorescences: From crop-residues to essential oil production](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.05.012). Ind Crops Prod 32, 329–337. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.05.012>
- Booth, J.K., Bohlmann, J., 2019. [Terpenes in Cannabis sativa – From plant genome to humans](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.03.022). Plant Science 284, 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.03.022>
- Booth, J.K., Page, J.E., Bohlmann, J., 2017. [Terpene synthases from Cannabis sativa](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173911). PLoS One 12, 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173911>
- Hillig, K.W., 2005. [Genetic evidence for speciation in Cannabis \(Cannabaceae\)](https://doi.org/10.1007/s10722-003-4452-y). Genet Resour Crop Evol 52, 161–180. <https://doi.org/10.1007/s10722-003-4452-y>
- Lewis, M.A., Russo, E.B., Smith, K.M., 2018. [Pharmacological Foundations of Cannabis Chemovars](https://doi.org/10.1055/s-0043-122240). Planta Med 84, 225–233. <https://doi.org/10.1055/s-0043-122240>
- Mudge, E.M., Brown, P.N., Murch, S.J., 2019. [The Terroir of Cannabis: Terpene Metabolomics as a Tool to Understand Cannabis sativa Selections](https://doi.org/10.1055/a-0915-2550). Planta Med 85, 781–796. <https://doi.org/10.1055/a-0915-2550>
- Mudge, E.M., Murch, S.J., Brown, P.N., 2017. [Leaner and greener analysis of cannabinoids](https://doi.org/10.1007/s00216-017-0256-3). Anal Bioanal Chem 409, 3153–3163. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0256-3>
- Namdar, D., Mazuz, M., Ion, A., Koltai, H., 2018. [Variation in the compositions of cannabinoid and terpenoids in Cannabis sativa derived from inflorescence position along the stem and extraction methods](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.060). Ind Crops Prod 113, 376–382. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.060>
- Nissen, L., Zatta, A., Stefanini, I., Grandi, S., Sgorbati, B., Biavati, B., Monti, A., 2010. [Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties \(Cannabis sativa L.\)](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.11.010). Fitoterapia 81, 413–419. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.11.010>
- Nuutinen, T., 2018a. [Medicinal properties of terpenes found in Cannabis sativa and Humulus lupulus](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.076). Eur J Med Chem. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.076>
- Orlando, G., Adorisio, S., Delfino, D., Chiavaroli, A., Brunetti, L., Recinella, L., Leone, S., D'antonio, M., Zengin, G., Acquaviva, A., Antico, M., Angelini, P., Angeles Flores, G., Venanzoni, R., Tacchini, M., Di Simone, S.C., Menghini, L., Ferrante, C., 2021. [Comparative investigation of composition, antifungal, and anti-inflammatory effects of the essential oil from three industrial hemp varieties from Italian cultivation](https://doi.org/10.3390/antibiotics10030334). Antibiotics 10. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030334>
- Pieracci, Y., Ascrizzi, R., Terreni, V., Pistelli, L., Flamini, G., Bassolino, L., Fulvio, F., Montanari, M., Paris, R., 2021. [Essential oil of cannabis sativa I: Comparison of yield and chemical composition of 11 hemp genotypes](https://doi.org/10.3390/molecules26134080). Molecules 26. <https://doi.org/10.3390/molecules26134080>
- Potter, D., 2009. The propagation, characterisation and optimisation of cannabis sativa I as a phytopharmaceutical. Doctoral dissertation, King's College London.
- Raman, V., Lata, H., Chandra, S., Khan, I.A., Elsohly, M.A., 2017. [Morpho-Anatomy of Marijuana \(Cannabis sativa L.\)](https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6), in: Cannabis Sativa L. - Botany and Biotechnology. Springer, Cham, pp. 123–136. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6>
- Ranalli, P., 2004. [Current status and future scenarios of hemp breeding](https://doi.org/10.1007/s10681-004-4760-0). Euphytica 140, 121–131. <https://doi.org/10.1007/s10681-004-4760-0>
- Russo, E.B., Marcu, J., 2017. [Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads](https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.03.004), 1st ed, Advances in Pharmacology. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.03.004>

- Sawler, J., Stout, J.M., Gardner, K.M., Hudson, D., Vidmar, J., Butler, L., Page, J.E., Myles, S., 2015. [The genetic structure of marijuana and hemp](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133292). PLoS One 10, 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133292>
- Small, E., Antle, T., 2003. [A preliminary study of pollen dispersal in cannabis sativa in relation to wind direction](https://doi.org/10.1300/J237v08n02_03). Journal of Industrial Hemp 8, 37–50. https://doi.org/10.1300/J237v08n02_03
- Sommano, S.R., Chittasupho, C., Ruksiriwanich, W., Jantrawut, P., 2020. [The Cannabis Terpenes](https://doi.org/10.3390/MOLECULES25245792). Molecules. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25245792>