

## 滇南农家大麻品种中大麻素 化学型及基因型研究

陈璇<sup>1,2</sup>, 郭孟璧<sup>2</sup>, 张庆滢<sup>2</sup>, 许艳萍<sup>2</sup>, 郭鸿彦<sup>2</sup>, 杨明<sup>2</sup>, 杨清辉<sup>1\*</sup>

(1 云南农业大学 农学与生物技术学院, 昆明 650201; 2 云南省农业科学院经济作物研究所, 昆明 650205)

**摘要:**以 1 个滇南农家大麻品种群体为研究对象, 通过化学分析及同源克隆方法, 研究了 21 个单株中 2 种主要大麻素——四氢大麻酚(THC)和大麻二酚(CBD)的化学型和基因型, 以揭示大麻素含量、化学型以及基因型三者之间的关系, 为工业大麻新品种选育提供理论依据。研究表明: (1) 化学检测结果显示, 21 个单株均含有 THC, THC 含量在 0.07%~1.35% 之间, 其中 7 个单株仅含 THC, 5 个单株含 THC 和微量 CBD, 9 个单株同时含有 THC 和 CBD, CBD 含量范围为 0~0.58%。(2) CBD/THC 比值显示, 该群体仅存在毒品型和中间型 2 种化学型, 且中间型大麻中 THC 和 CBD 含量显著正相关。(3) 基因扩增及测序分析结果显示, 该群体为基因型杂合群体, 群体内 THCA 合成酶基因存在 5 个变异位点, CBDA 合成酶基因存在 2 个变异位点, 但变异位点和 THC 及 CBD 的含量无直接关系。(4) 群体内单株的基因型和化学型完全对应, 且 THCA 合成酶基因及 CBDA 合成酶基因可作为分子标记来鉴定单株化学型。

**关键词:** 大麻; 大麻素; 四氢大麻酚; 大麻二酚; 化学型; 基因型

**中图分类号:** Q946.8; Q789 **文献标志码:** A

## Chemotype and Genotype of Cannabinoids in Hemp Landrace from Southern Yunnan

CHEN Xuan<sup>1,2</sup>, GUO Mengbi<sup>2</sup>, ZHANG Qingying<sup>2</sup>, XU Yanping<sup>2</sup>,  
GUO Hongyan<sup>2</sup>, YANG Ming<sup>2</sup>, YANG Qinghui<sup>1\*</sup>

(1 College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2 Industrial Crop Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China)

**Abstract:** A hemp landrace from southern Yunnan was selected to study the chemotype and genotype of two main cannabinoids (tetrahydrocannabinol, THC; cannabidiol, CBD) by chemical test and gene cloning, respectively. The results are: (1) Chemical test revealed that all 21 plants contained THC, and the THC content ranged from 0.07% to 1.35%. In this population, 9 plants contained THC alone, 5 plants contained THC and trace CBD, and the other 9 plants included both THC and CBD, while the CBD content ranged from 0 to 0.58%. (2) Accordingly to the content ratio of CBD/THC, only drug-type and intermediate-type were existed in the landrace. There was also a positive correlation between THC and CBD contents in the plants of intermediate-type. (3) Gene amplification and sequence alignment showed 5 base variations and 2 base variations in THCA synthase genes and CBDA synthase genes, respectively, and the variations had no direct relations with the contents of THC and CBD. (4) The genotype completely matched with chemotype

收稿日期: 2013-05-12; 修改稿收到日期: 2013-07-21

基金项目: 国家自然科学基金(31160296); 云南省科技计划(2012FB190); 云南省科技计划重点新产品开发项目(2011BB011)

作者简介: 陈璇(1981-), 男, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事麻类作物育种及生物技术研究。E-mail: chenxuan9239@163.com

\* 通信作者: 杨清辉, 教授, 博士生导师, 主要从事作物育种研究。E-mail: yangqinghui@163.com

in 21 plants, and the two synthase genes can be made as molecular marker to identified chemotype in a single plant.

**Key words:** Hemp; cannabinoid; THC; CBD; chemotype; genotype

大麻(*Cannabis sativa* L.)是大麻科(Cannabaceae)大麻属(*Cannabis*)一年生草本植物,多为雌雄异株。世界各地都有广泛的栽培或野生,现主要分布在亚洲、欧洲和加拿大,中国大麻种质资源丰富,有着悠久的栽培历史。大麻全身是宝,有重要的经济价值,涉及纺织、食品、造纸、建材及制药等多个方面<sup>[1-3]</sup>。但是,由于大麻植株中含有一种致幻成瘾的活性成分——四氢大麻酚(tetrahydrocannabinol, THC),大麻在西方社会早已成为泛滥毒品之一。随着近年来世界各地对大麻经济价值的发掘和利用不断加大,部分发达国家以及中国云南把 THC < 0.3% (雌株顶部花叶中干物质含量)的大麻品种类型定义为工业大麻,不在毒品大麻范围之内,可以合法种植<sup>[4]</sup>。

大麻素(cannabinoids)是大麻植物中特有的含有烷基和单萜基团分子结构的一类次生代谢产物。目前,已从大麻干物质及新鲜大麻叶中分离出大麻素 70 多种,主要包括四氢大麻酚、大麻二酚(cannabidiol, CBD)、大麻环萜酚(cannabichromene, CBC)、大麻酚(cannabinol, CBN)、大麻萜酚(cannabigerol, CBG)等,其中又以雌株花叶中 THC 和 CBD 的含量最高,约占大麻植株中酚类物质的 90%,为大麻素中 2 个主要物质<sup>[5-6]</sup>。科学界普遍根据 THC 和 CBD 的含量及比值来对大麻植物进行化学型分类。Fetterman 等<sup>[7]</sup>根据 CBD/THC 比值将大麻植物分为 2 种化学型,即毒品型大麻(CBD/THC < 1.0)和纤维型大麻(CBD/THC > 1.0)。Small 等<sup>[8]</sup>基于 THC 与 CBD 的含量将大麻分为 3 种化学型:毒品型大麻(THC > 0.3%, CBD < 0.5%)、中间型大麻(THC > 0.3%, CBD > 0.5%)和纤维型大麻(THC < 0.3%, CBD > 0.5%),这种分类观点认为,THC < 0.3% 的大麻不会使人致幻成瘾。De Meijer 等<sup>[9]</sup>则把 THC < 0.5% 的大麻划归为非毒品大麻,认为大麻可分为毒品型大麻(THC > 0.5%、CBD < 0.5%,即 CBD/THC < 1)、中间型大麻(THC > 0.5%、CBD > 0.5%,即 CBD/THC ≈ 1)和纤维型大麻(THC < 0.5%、CBD > 0.5%,即 CBD/THC > 1)。总的来说,将大麻分为毒品型大麻(CBD/THC < 0.5)、中间型大麻(CBD/THC ≈ 1,通常为 0.5~3.0)、纤维型大麻(CBD/

THC > 3.0) 3 种化学型得到了多数专家的认可。但是,大麻化学型分类的方法目前只用于科学研究中,CBD/THC 比值用来描述植株中大麻素的含量特征,而在禁毒检测或者工业大麻评价的时候,常常只根据 THC 的含量来判定是否属于毒品大麻或工业大麻,目前国际上普遍的标准是将花叶中 THC < 0.3% 的大麻品种归为工业大麻,而欧盟部分国家则将 THC 阈值降低到 0.2%,THC 阈值有逐渐降低的趋势。

研究表明,THC 和 CBD 在新鲜大麻植株中都是以酸的形式存在(即 THCA 和 CBDA,脱羧基则变成酚的形式),且 THCA 和 CBDA 是由同一个前体物质——大麻萜酚酸(CBGA),经过不同氧化还原酶催化而得到<sup>[10-11]</sup>。目前已经从墨西哥毒品和纤维大麻中分离到了这 2 个酶基因,即 THCA 合成酶基因(THCAS, GenBank 注册号 E33091)<sup>[12]</sup>和 CBDA 合成酶基因(CBDAS, GenBank 注册号 E55107)<sup>[11,13]</sup>,且这 2 个酶互为同分异构体。De Meijer 等<sup>[14]</sup>通过大麻素含量特异种质杂交 F<sub>2</sub> 代实验,认为 CBD 和 THC 性状可能由 1 对共显性的等位基因所控制,如果把这个位点称为 B 且 B<sub>D</sub> 和 B<sub>T</sub> 分别控制 CBD 和 THC 的话,那么纯 CBD 的基因型为 B<sub>D</sub>/B<sub>D</sub>,纯 THC 的基因型为 B<sub>T</sub>/B<sub>T</sub>,同时含 CBD 和 THC 的基因型为 B<sub>D</sub>/B<sub>T</sub>,这个结论认为 B 位点的基因型严格控制着大麻中 THC 和 CBD 的存在与否。

中国农家大麻品种资源丰富,工业大麻选育过程常采用化学手段筛选低 THC 含量的农家群体为选育重点材料,筛选对象是群体,且筛选时期为雌株始果期花叶,受群体本身纯合程度及环境的影响,很难得到符合 THC 含量要求的工业大麻,使得工业大麻选育过程存在一定的盲目性。本实验选取云南文山州种植的农家大麻品种为研究对象,通过群体内单株中 THC 和 CBD 含量检测、化学型特征、基因型特征分析,旨在明确大麻农家品种中大麻素含量特征、化学型和基因型之间的关系,探索分子标记早期筛选 THC 等性状的可能性,可以为大麻农家品种利用提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 植物材料与种植

文山州的农家大麻品种群体在当地主要用来收

获麻籽,当地生育期为 190 d 左右,属晚熟群体。2010 年从当地收集种子,并于 2011 年在云南省农科院经济作物研究所温室内统一种植,5 月上旬播种,正常水肥管理。

### 1.2 取样

待生长至始果期,随机采摘 21 株雌株的顶部花叶(顶部 20 cm)装入网袋,进行阴干。同时取嫩叶提取基因组总 DNA。

### 1.3 化学检测条件

根据云南省地方标准《工业大麻 品种类型》(DB53/ 295.1-2009)中推荐的检测规程,将花叶材料自然阴干后使用高效液相色谱(HPLC)方法,检测 THC、CBD 等的含量。检测条件为:色谱柱:Zorbax SB-C<sub>18</sub>(4.6×250 mm,5 μm);流动相:乙腈:磷酸盐缓冲液(pH 4.0)=85:15;流速:1.0 mL/min;检测波长:220 nm;柱温:30 °C。进样量为 10 μL,按外标法以峰面积定量,同时测定样品中 THC、CBD 和 CBN 占花叶干重的百分比含量<sup>[15]</sup>。每份样品均进样 3 次,取含量平均值。

### 1.4 基因扩增和测序

根据墨西哥大麻中 THCA 基因(E33091)及 CBDAS 基因(E55107)的序列,设计两对引物(如下),THCA 合成酶引物(F:5'-AATGAATTGCT-CAGCATT-3'和R:5'-AATTAATGATGATG-CGGTG-3'),CBDA 合成酶引物(F:5'-ATGAAGT-GCTCAACATTCTCCT-3'和R:5'-TTAATGACG-ATGCCGTGGAAG-3')。扩增条件为:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 45 s,59 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 90 s,35 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min。扩增产物 TA 克隆后,送到上海生物工程有限公司进行双向测序,测得的序列使用 DNASTar 软件中 SeqMan 进行拼接及人工校对,并利用 MegAlign 程序进行多序列对比分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 群体内单株大麻素含量检测

为明确农家群体中单株中大麻素的含量特征,并从化学方面反映群体的纯和程度,在确保种植、管理、取样、前处理等过程一致的情况下,对 21 个单株进行了大麻素含量测定。检测结果显示(表 1),21 个单株中都含有 THC,含量最低为 0.07%,最高为 1.35%,平均值为 0.50%,标准差为 0.35%。21 个单株中有 7 个单株完全不含 CBD,THC 含量范围为 0.25%~1.06%,平均值为 0.62%;有 5 个单株

含 THC 和微量 CBD(含量均为 0.01%),THC 含量范围为 0.58%~1.35%,平均值为 0.85%。21 个单株中有 9 个单株同时含有 THC 和 CBD,且 CBD 含量均大于 THC 含量,9 个单株中 THC 含量范围为 0.07%~0.34%,平均值为 0.21%,CBD 含量范围为 0.16%~0.58%,平均值为 0.36%。所有材料中均未检测到 CBN,由于 CBN 是 THC 氧化后的产物,说明测试材料中 THC 均未发生氧化。

### 2.2 群体内单株大麻素化学型分析

为进一步了解群体中化学型分布情况,根据 CBD/THC 含量比值对群体化学型进行了分析。按照毒品型大麻(I 型,CBD/THC<0.5)、中间型大麻(II 型,CBD/THC≈1,通常为 0.5~3.0)、纤维型大麻(III 型,CBD/THC>3.0)的分类方法,对农家品种群体中单株进行化学型分类(表 1,图 1)。统计得,在 21 个单株中毒品型(I 型)占 57.14%,中间型(II 型)占 42.86%,纤维型(III 型)无,I 型和 II 型比例接近 1:1。

表 1 群体内单株中 CBD 及 THC 含量情况

Table 1 CBD and THC contents of single plant in the population

编号 No	CBD 含量 CBD content/%	THC 含量 THC content/%	CBD/THC 比值 CBD/THC ratio	化学型 Chemotype
1	0.33	0.18	1.83	II
2	0.01	0.68	0.01	I
3	0.01	0.58	0.02	I
4	0.25	0.13	1.92	II
5	0.58	0.34	1.71	II
6	0.35	0.19	1.84	II
7	0.45	0.28	1.61	II
8	0.00	0.58	0.00	I
9	0.31	0.18	1.72	II
10	0.01	1.35	0.01	I
11	0.16	0.07	2.29	II
12	0.00	1.06	0.00	I
13	0.01	0.61	0.02	I
14	0.33	0.22	1.50	II
15	0.00	0.25	0.00	I
16	0.00	0.68	0.00	I
17	0.45	0.26	1.73	II
18	0.00	0.46	0.00	I
19	0.00	0.82	0.00	I
20	0.01	1.01	0.01	I
21	0.00	0.48	0.00	I

注:1~21 为 21 个单株编号;I 为毒品型,II 为中间型。

Note:1~21 is the number of single plant; I is Drug-type, and II is Intermediate-type.

### 2.3 THC 和 CBD 含量相关性及回归分析

中间型材料中同时含有 THC 和 CBD,为进一步明确两者之间的含量关系,使用 SPSS 软件对 9 个中间型单株中 THC 和 CBD 含量进行了相关分析和回归分析。相关分析表明:THC 含量和 CBD 含量的相关系数为 0.984,且两者之间存在极显著的正相关关系。回归分析表明:回归系数为 0.648,  $t$  值为 14.597,  $P=0.000<0.01$ ,表明 THC 含量与 CBD 含量间存在极显著的线性关系,可建立两者之间的回归方程来预测 THC 的含量(图 2),回归方程为  $y=0.648x-0.025$ 。

### 2.4 群体内单株大麻素基因型分析

由上述所知,该群体中 THC 含量范围为 0.07%~1.35%,CBD 含量范围为 0~0.58%,为深入了解群体单株大麻素含量差异和关键基因多态性的关系,分别设计了两对特异性引物对 21 个单株中 2 个关键酶基因(THCAS、CBDAS)进行了 PCR 扩增,测序后进行了多序列对比。

扩增结果显示(图 3),THCAS 引物在 21 个单株中均扩增出了特异性条带,条带大小约 1 600 bp,符合预期基因片段大小;CBDAS 引物在 9 株中间型(II 型)大麻中均扩增出了目标条带,而在其余 12 株中均没有扩增条带。值得一提的是,5 株含微量 CBD 的植株中同样没有扩增条带。测序拼接后获得 THCAS 序列 21 条,CBDAS 序列 9 条,分别以墨西哥毒品大麻中 THCAS 基因和 CBDAS 基因为对照,对基因序列及编码蛋白序列进行多序列对比。结果显示,21 条 THCAS 基因编码区长度和对照一致,均为 1 635 bp,21 个序列存在 5 个单核苷酸变异位点,分别在第 146 位置(15 号植株中 T 替换对照中的 C),303 位置(6 和 18 号植株中 C 替换 G),366 位置(8 和 15 号植株中 T 替换 A),402 位置(8 和 15 号植株中 T 替换 C),898 位置(14 号植株中 A 替换 G),而编码的蛋白质只有 3 个变异位点,另外两个为同义突变。9 条 CBDAS 基因编码区长度和对照一致,均为 1 632 bp,存在 2 个变异位点,分别

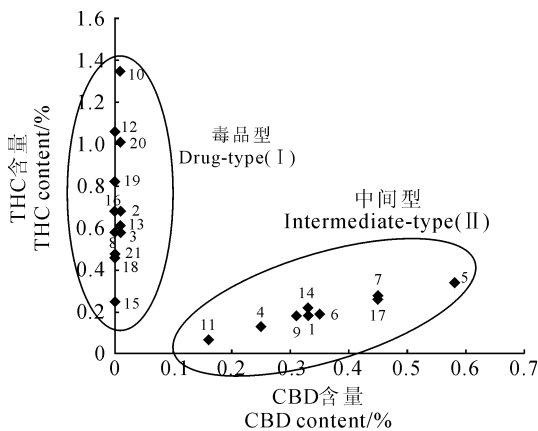


图 1 群体中化学型分类情况

Fig. 1 Chemotype distributions in the population

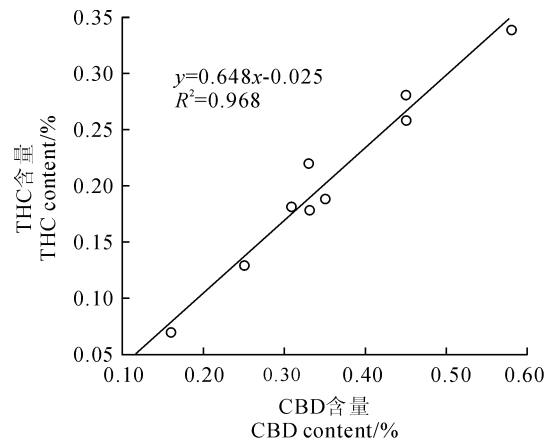


图 2 THC 和 CBD 含量的线性趋势

Fig. 2 Linear trend of THC and CBD content

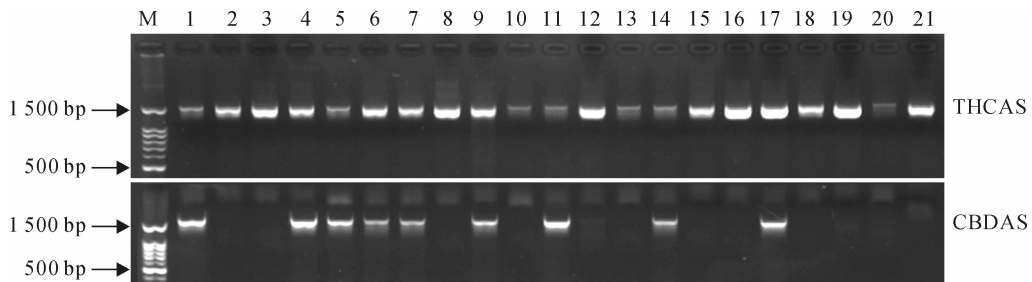


图 3 THCA 合成酶基因及 CBDA 合成酶基因的 PCR 扩增

1~21. 21 个单株编号;THCAS. THC 合成酶基因;CBDAS. CBD 合成酶基因;M. 100 bp DNA ladder

Fig. 3 PCR amplification of THCAS and CBDSA genes

1~21. The number of single plant;THCAS. THCA synthase gene;CBDAS. CBDA synthase gene;M. 100 bp DNA Ladder

为 105 位置(9 个中间型单株全部为 T 替换 G,此处为同义突变),1 229 位置(1 号植株中 T 替换 C),此处编码氨基酸由 A 替换 V。分析得出,基因变异情况和大麻素含量无直接关系。

### 3 讨 论

本实验选取了云南文山州一个农家大麻品种为研究对象,发现该群体中 THC 含量范围为 0.07%~1.35%,CBD 含量范围为 0~0.58%,单株之间含量差异显著。目前工业大麻选育过程中普遍采用化学测定法来从农家品种的雌性群体中选择 THC<0.3%的群体作为选育的重点群体<sup>[16-17]</sup>,从本研究结果来看,不仅群体内部单株之间 THC 含量差异显著,而且即便是含量低至 0.07%的植株中仍然含有合成 THC 的关键基因。这提示了工业大麻育种原始群体选择过程中,单独以 THC<0.3%作为选择的标准有待改进,尽管有 THC 含量特别低材料,但如果含有 THCAS 基因本身,仍然有被外界环境诱导成高毒的可能,应该针对群体中雌性以及雄性植株,结合 THC 含量和基因型两方面来选择。

本研究群体中 5 个含 THC 和微量 CBD(含量均为 0.01%)的单株中,并不含有 CBDAS 基因,说明微量 CBD 的产生并非由该基因控制合成,鉴于 THCSA 和 CBDAS 酶基因互为同分异构体,推测微量 CBD 是由 THCAS 催化合成,但其催化合成 CBD 的活性非常弱,CBD 含量会保持在一个相当低的水平。反之,如果不含 THCSA 基因,而仍然有微量的 THC 存在,则同样可推测其是由 CBDAS 催化合成,具体这个微量值会是多少,还有待进一步研究。

THC 和 CBD 是由同一个前体物质——大麻萜酚(CBG)经过不同催化酶催化而来,那么 THC 和 CBD 在含量上的关系一直是关注的重点。从本研究结果来看,毒品型大麻中不含 CBD 或仅含微量 CBD;而中间型大麻中 THC 含量和 CBD 含量的相

关系系数为 0.984,且两者之间存在极显著的正相关关系,回归方程为  $y=0.648x-0.025$ 。前期的研究表明,THC 和 CBD 在幼苗期含量较低,雌株花叶中含量最高,种子成熟期含量下降,且在相同时期不同部位中含量也不相同,进一步研究不同生长阶段或器官、组织中 CBD/THC 含量比值变化情况,从而明确大麻化学型的变化规律,同样可为工业大麻育种提供参考<sup>[18]</sup>。

本群体是采农家品种的混合植株上的混合种子来种植的,研究发现群体中只存在毒品型和中间型两种化学型,分别对应的基因型为 THC/THC 和 CBD/THC。按照 De Meijer 等<sup>[15]</sup>研究认为,CBD 和 THC 性状可能由 1 对共显性的等位基因 B 位点控制,那么毒品型的基因型为  $B_T/B_T$ ,中间型为  $B_D/B_T$ ,纤维型为  $B_D/B_D$ ,从本研究来看该群体中只存在  $B_T/B_T$  和  $B_D/B_T$  两种基因型,且比例接近 1:1,并不存在  $B_D/B_D$ ,从上述理论上无法解释,推测导致没有  $B_D/B_D$  的原因可能是该群体植株中存在另外一个 B 位点,且该位点固定由  $B_T/B_T$  组成,具体原因有待进一步研究。如果该假设被证实,则不大可能从该群体中选择出不含 THC 的工业大麻品种。

Kojoma 等<sup>[19]</sup>对 13 个来源不同且 THC 含量不同的大麻品种中 THCA 合成酶基因多态性分析,认为高毒和低毒品种中均存在 THCAS 基因,但两类大麻在基因序列上有 62 个碱基的差别,基因序列差异进一步导致 THCAS 活性有高低之分,从而决定 THC 含量高低。本研究中参试群体基因克隆表明,21 个单株的基因型和化学型完全对应,THCAS 基因及 CBDAS 基因可作为分子标记来鉴定群体中单株化学型,尽管 2 个基因在单株中存在少数变异位点,但是该变异和含量多少无直接关系,导致含量差异的原因可能是基因拷贝数、转录或翻译调控所导致。如要明确基因多态性对 THC 和 CBD 含量的影响,应该选取中国不同地区不同 THC 和 CBD 含量的材料来进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 熊和平.麻类作物育种学[M].北京:中国农业科学技术出版社,2008:297-301.
- [2] 陈其本,余立惠,杨 明,等.大麻栽培利用及发展对策[M].成都:电子科技大学出版社,1993:1-34.
- [3] ROBSON P. Human studies of cannabinoids and medicinal cannabis[M]. Heidelberg:Springer-Verlag,2005:719-756.
- [4] CHEN X(陈 璇),YANG M(杨 明),GUO H Y(郭鸿彦). Research advances in cannabinoids of *Cannabis sativa* [J]. *Chinese Bulletin*

- of Botany*(植物学报), 2011, **46**(2):197—205(in Chinese).
- [5] ELSOHLY M A, SLADE D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids[J]. *Life Sciences*, 2005, **78**(5):539—548.
- [6] RADWAN M M, ROSS S A, SLADE D, *et al.* Isolation and characterization of new *Cannabis* constituents from a high potency variety[J]. *Planta Medica*, 2008, **74**(3):267—272.
- [7] FETTERMAN P S, KEITH E S, WALLER C W, *et al.* Mississippi-grown *Cannabis sativa* L: Preliminary observation on chemical definition of phenotype and variations in tetrahydrocannabinol content versus age, sex, and plant part[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1971, **60**(8):1 246—1 249.
- [8] SMALL E, BECKSTEAD H D. Common cannabinoid phenotypes in 350 stocks of *Cannabis*[J]. *Lloyd Library and Museum*, 1973, **36**(2):144—165.
- [9] DE MEIJER E P M, VAN DER K, VAN EEUWIJK F A. Characterization of *Cannabis* accessions with regard to cannabinoid content in relation to other plant characters[J]. *Euphytica*, 1992, **62**(3):187—200.
- [10] TAURA F, MORIMOTO S, SHOYAMA Y, *et al.* First direct evidence for the mechanism of  $\Delta^1$ -tetrahydrocannabinolic acid biosynthesis [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1995, **117**(38):9 766—9 767.
- [11] TAURA F, MORIMOTO S, SHOYAMA Y. Purification and characterization of cannabidiolic acid synthase from *Cannabis sativa* L[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, **271**(29):17 411—17 416.
- [12] SIRIKANTARAMAS S, MORIMOTO S, SHOYAMA Y, *et al.* The gene controlling marijuana psychoactivity: molecular cloning and heterologous expression of  $\Delta^1$ -tetrahydrocannabinolic acid synthase from *Cannabis sativa* L[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, **279**(38):39 767—39 774.
- [13] TAURA F, SIRIKANTARAMAS S, SHOYAMA Y, *et al.* Cannabidiolic acid synthase, the chemotype-determining enzyme in the fiber-type *Cannabis sativa* [J]. *Federation of European Biochemical Societies*, 2007, **581**(16):2 929—2 934.
- [14] DE MEIJER E P M, BAGATTA M, CARBONI A, *et al.* The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L[J]. *Genetics Society of America*, 2003, **163**:335—346.
- [15] GUO M B(郭孟璧), GUO H Y(郭鸿彦), XU Y P(许艳萍), *et al.* The pre-treatment process optimization of HPLC analysis on cannabinoids in hemp[J]. *Plant Fiber Sciences in China*(中国麻业科学), 2009, **31**(3):182—185(in Chinese).
- [16] YANG M(杨明), GUO H Y(郭鸿彦), WEN G S(文国松), *et al.* Breeding of a new hemp variety “Yunma 1” and its cultivation[J]. *Plant Fiber and Products*(中国麻业), 2003, **25**(1):1—3(in Chinese).
- [17] GUO H Y(郭鸿彦), HU X L(胡学礼), CHEN Y(陈裕), *et al.* Research on breeding of new early-maturing seed-using hemp variety Yunma No. 2[J]. *Plant Fiber Sciences in China*(中国麻业科学), 2009, **31**(5):285—287(in Chinese).
- [18] 杨明. 中国大麻种质资源遗传多样性研究[D]. 昆明: 云南农业大学, 2012.
- [19] KOJOMA M, SEKI H, YOSHIDA S, *et al.* DNA polymorphisms in the tetrahydrocannabinolic acid (THCA) synthase gene in “drug-type” and “fiber-type” *Cannabis sativa* L[J]. *Forensic Science International*, 2006, **159**(2—3):132—140.