

LA Cannabis MEDICA: PRESENTE E SVILUPPI FUTURI

I RISULTATI DEL PROGETTO CAMED

**Dalla produzione alla ricerca, l'esperienza del
CREA nel progetto CAMED**

Dr. Massimo Montanari e Dr.ssa Roberta Paris

*Ricercatori CREA Centro di Ricerca Cerealicoltura e
Colture Industriali, sede di Bologna*



Dalla produzione alla ricerca, l'esperienza del CREA nel progetto CAMED

- WP2 Mantenimento in purezza delle piante madri delle varietà CINBOL e CINRO per uso farmaceutico, produzione e fornitura delle talee (WP leader: dr. Massimo Montanari)

Task 2.1: Mantenimento in purezza delle piante madri;

Task 2.2: Produzione e fornitura delle talee;

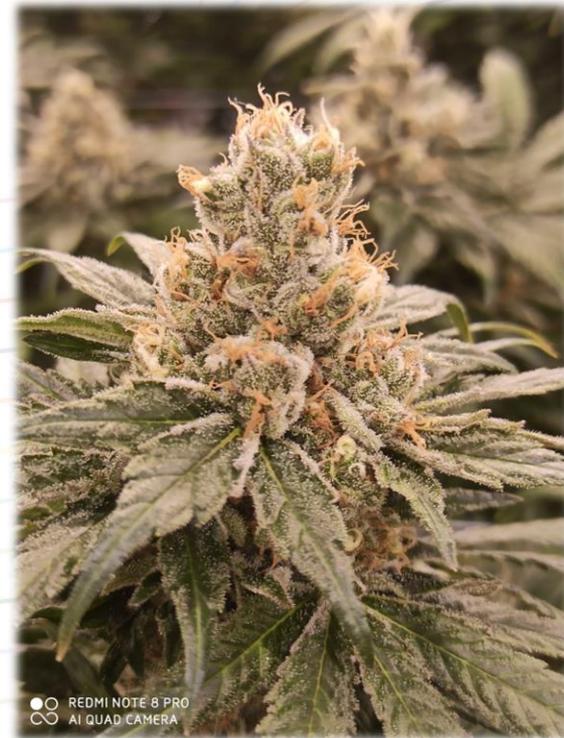
WP2	U.O.1. CI Sede di Rovigo – Massimo Montanari (WP Leader)	CI	Massimo Montanari Ilaria Alberti Cristina Baldin Daniele Ghinato Lina Faustini
-----	---	----	--

VARIETÀ DI CANAPA

Trasformazione industriale – Uso medico

Chemotype I (high prevalent Δ^9 -THC)
 Δ^9 -THC is 14-15% (can reach 18%)
CBD < 1

CINBOL



CPVO CPVO	Kenmerken Characteristics	Expressie States of expression	Klasse Note	Opmerkingen Remarks
1	Plant: anthocyaankleuring kroon <i>Plant: anthocyanin coloration of crown</i>	ontbrekend of zeer zwak <i>absent or very weak</i>	1	
2	Blad: intensiteit groenkleur <i>Leaf: intensity of green color</i>	midden <i>medium</i>	2	
3	Blad: lengte bladsteel <i>Leaf: length of petiole</i>	lang <i>long</i>	3	
4	Blad: anthocyaankleuring bladsteel <i>Leaf: anthocyanin coloration of petiole</i>	midden <i>medium</i>	3	
5	Blad: aantal blaadjes <i>Leaf: number of leaflets</i>	weinig <i>few</i>	1	
6	Middelste blaadje: lengte <i>Central leaflet: length</i>	kort tot midden <i>short to medium</i>	4	
7	Middelste blaadje: breedte <i>Central leaflet: width</i>	midden <i>medium</i>	5	
8	Tijdstip van de mannelijke bloei <i>Time of male flowering</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
9	Bloeiwijze: anthocyaankleuring mannelijke bloemen <i>Inflorescence: anthocyanin coloration of male flowers</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
10	Bloeiwijze: THC gehalte <i>Inflorescence: THC content</i>	zeer hoog <i>very high</i>	5	
11	Plant: aandeel tweeslachtige planten <i>Plant: proportion of hermaphrodite plants</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
12	Plant: aandeel vrouwelijke planten <i>Plant: proportion of female plants</i>	hoog <i>high</i>	5	
13	Plant: aandeel mannelijke planten <i>Plant: proportion of male plants</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
14	Plant: natuurlijke hoogte <i>Plant: natural height</i>	zeer kort <i>very short</i>	1	
15	Hoofdstengel: kleur <i>Main stem: color</i>	middengroen <i>medium green</i>	2	tot donkergroen to green
16	Hoofdstengel: lengte internodium <i>Main stem: length of internode</i>	zeer kort <i>very short</i>	1	
17	Hoofdstengel: dikte <i>Main stem: thickness</i>	dun <i>thin</i>	1	
18	Hoofdstengel: diepte groeven <i>Main stem: depth of grooves</i>	ondiep <i>shallow</i>	1	
19	Hoofdstengel: merg in dwarsdoorsnede <i>Main stem: pith in cross-section</i>	midden <i>medium</i>	2	tot dik to thick
20	Zaad: 1000 korrelgewicht <i>Seed: 1000 seed weight</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
21	Zaad: kleur zaadhuid <i>Seed: color of testa</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
22	Zaad: mamering <i>Seed: marbling</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
	<i>Time of male flowering</i>	<i>not applicable</i>		
9	Bloeiwijze: anthocyaankleuring mannelijke bloemen <i>Inflorescence: anthocyanin coloration of male flowers</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
10	Bloeiwijze: THC gehalte <i>Inflorescence: THC content</i>	zeer hoog <i>very high</i>	5	
11	Plant: aandeel tweeslachtige planten <i>Plant: proportion of hermaphrodite plants</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	

Variety Data Sheet

Register

Country **QZ - European Union** Type **Plant Breeders' Rights (PBR)**
Name **Official Publication of the Community Plant Variety Office**
Organization **Community Plant Variety Office**
Web site **www.cpvo.europa.eu**

Species

Principal botanical name **Cannabis sativa L.**
Code **CANNB_SAT** Class **CANNB**

Registration status

Variety Status **Registered**

Application

Number **20163264** Breeder's Reference **cinbol**
Date **23/12/2016** Publication Date **15/02/2017**

Grant/registration

Number **50407** Date **01/10/2018**
Publication Date **15/12/2018** Renewal Date

Expiration

Expiration actual Future expiration date **31/12/2043**

Parties

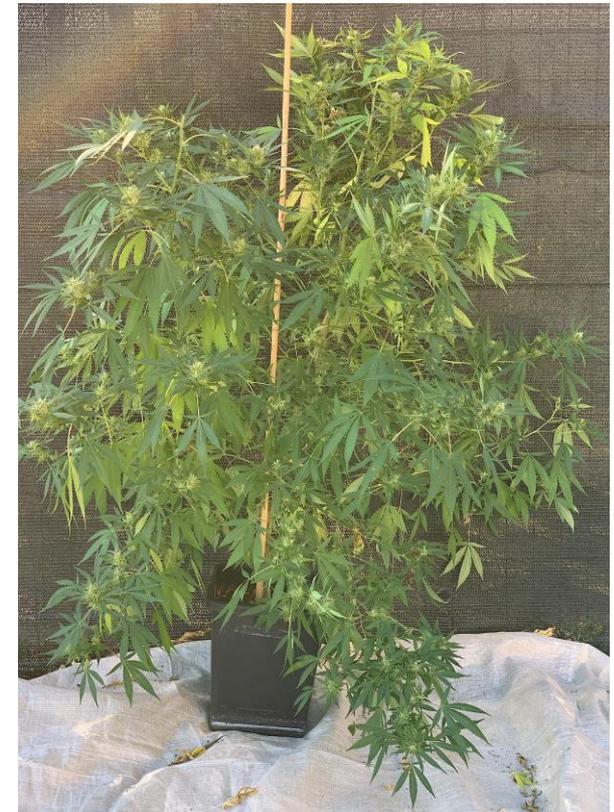


Caratteristiche

Il fusto è lievemente solcato, cavo, arrotondato nella sezione trasversale, scabro, coperto di tricomi sessili. Le foglie sono alterne, disposte a spirale, provviste di stipole acuminate.

Descrizione

Pianta erbacea annuale, robusta, lussureggiante, di variabili dimensioni a seconda delle tecniche di allevamento e delle condizioni ambientali. Ha una struttura ampiamente ramificata, di sesso femminile stabile.



VARIETÀ DI CANAPA

Trasformazione industriale – Uso medico

CINRO



Chemotype II (CBD and Δ^9 THC at high concentration) CBD + Δ^9 THC = 15% \pm 2%
THC:CBD=2:3



Variety Data Sheet

Register

Country **QZ - European Union** Type **Plant Breeders' Rights (PBR)**
Name **Official Publication of the Community Plant Variety Office**
Organization **Community Plant Variety Office**
Web site **www.cpvo.europa.eu**

Species

Principal botanical name **Cannabis sativa L.**
Code **CANNB_SAT** Class **CANNB**

Registration status

Variety Status **Registered**

Application

Number **20160498** Breeder's Reference **230/1**
Date **12/02/2016** Publication Date **15/04/2016**

Grant/registration

Number **50406** Date **01/10/2018**
Publication Date **15/12/2018** Renewal Date

Expiration

Expiration actual Future expiration date **31/12/2043**

Parties

CPVO CPVO	Kenmerken Characteristics	Expressie States of expression	Klasse Note	Opmerkingen Remarks
1	Plant: anthocyaankleuring kroon <i>Plant: anthocyanin coloration of crown</i>	ontbrekend of zeer zwak <i>absent or very weak</i>	1	
2	Blad: intensiteit groenkleur <i>Leaf: intensity of green color</i>	midden <i>medium</i>	2	
3	Blad: lengte bladsteel <i>Leaf: length of petiole</i>	lang <i>long</i>	3	
4	Blad: anthocyaankleuring bladsteel <i>Leaf: anthocyanin coloration of petiole</i>	zwak <i>weak</i>	2	
5	Blad: aantal blaadjes <i>Leaf: number of leaflets</i>	midden <i>medium</i>	2	
6	Middelste blaadje: lengte <i>Central leaflet: length</i>	kort tot midden <i>short to medium</i>	4	
7	Middelste blaadje: breedte <i>Central leaflet: width</i>	midden <i>medium</i>	5	
8	Tijdstip van de mannelijke bloei <i>Time of male flowering</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
9	Bloeiwijze: anthocyaankleuring mannelijke bloemen <i>Inflorescence: anthocyanin coloration of male flowers</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
10	Bloeiwijze: THC gehalte <i>Inflorescence: THC content</i>	hoog <i>high</i>	4	
11	Plant: aandeel tweeslachtige planten <i>Plant: proportion of hermaphrodite plants</i>	zie opmerkingen <i>see remarks</i>	X	afwezig <i>absent</i>
12	Plant: aandeel vrouwelijke planten <i>Plant: proportion of female plants</i>	hoog <i>high</i>	5	
13	Plant: aandeel mannelijke planten <i>Plant: proportion of male plants</i>	zie opmerkingen <i>see remarks</i>	X	afwezig <i>absent</i>
14	Plant: natuurlijke hoogte <i>Plant: natural height</i>	zeer kort <i>very short</i>	1	
15	Hoofdstengel: kleur <i>Main stem: color</i>	middengroen <i>medium green</i>	2	tot donkergroen <i>to dark green</i>
16	Hoofdstengel: lengte internodium <i>Main stem: length of internode</i>	zeer kort <i>very short</i>	1	
17	Hoofdstengel: dikte <i>Main stem: thickness</i>	dun <i>thin</i>	1	
18	Hoofdstengel: diepte groeven <i>Main stem: depth of grooves</i>	ondiep <i>shallow</i>	1	
19	Hoofdstengel: merg in dwarsdoorsnede <i>Main stem: pith in cross-section</i>	dik <i>thick</i>	3	
20	Zaad: 1000 korrelgewicht <i>Seed: 1000 seed weight</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
21	Zaad: kleur zaadhuid <i>Seed: color of testa</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
9	Bloeiwijze: anthocyaankleuring mannelijke bloemen <i>Inflorescence: anthocyanin coloration of male flowers</i>	niet van toepassing <i>not applicable</i>	-	
10	Bloeiwijze: THC gehalte <i>Inflorescence: THC content</i>	hoog <i>high</i>	4	
11	Plant: aandeel tweeslachtige planten <i>Plant: proportion of hermaphrodite plants</i>	zie opmerkingen <i>see remarks</i>	X	afwezig <i>absent</i>
12	Plant: aandeel vrouwelijke planten <i>Plant: proportion of female plants</i>	hoog <i>high</i>	5	

Descrizione

Pianta erbacea annuale, robusta, lussureggiante, di variabili dimensioni a seconda delle tecniche di allevamento e del fotoperiodo, ampiamente ramificata, di sesso femminile stabile ai fattori ambientali.

Caratteristiche

Fusto è lievemente solcato, cavo, arrotondato nella sezione trasversale, scabro, coperto di tricomi sessili. Foglie sono alterne, disposte a spirale, provviste di stipole acuminate



Una pianta madre ha una vita produttiva di 6/8 mesi

La dimensione della pianta madre può variare a seconda delle condizioni di crescita e del fotoperiodo

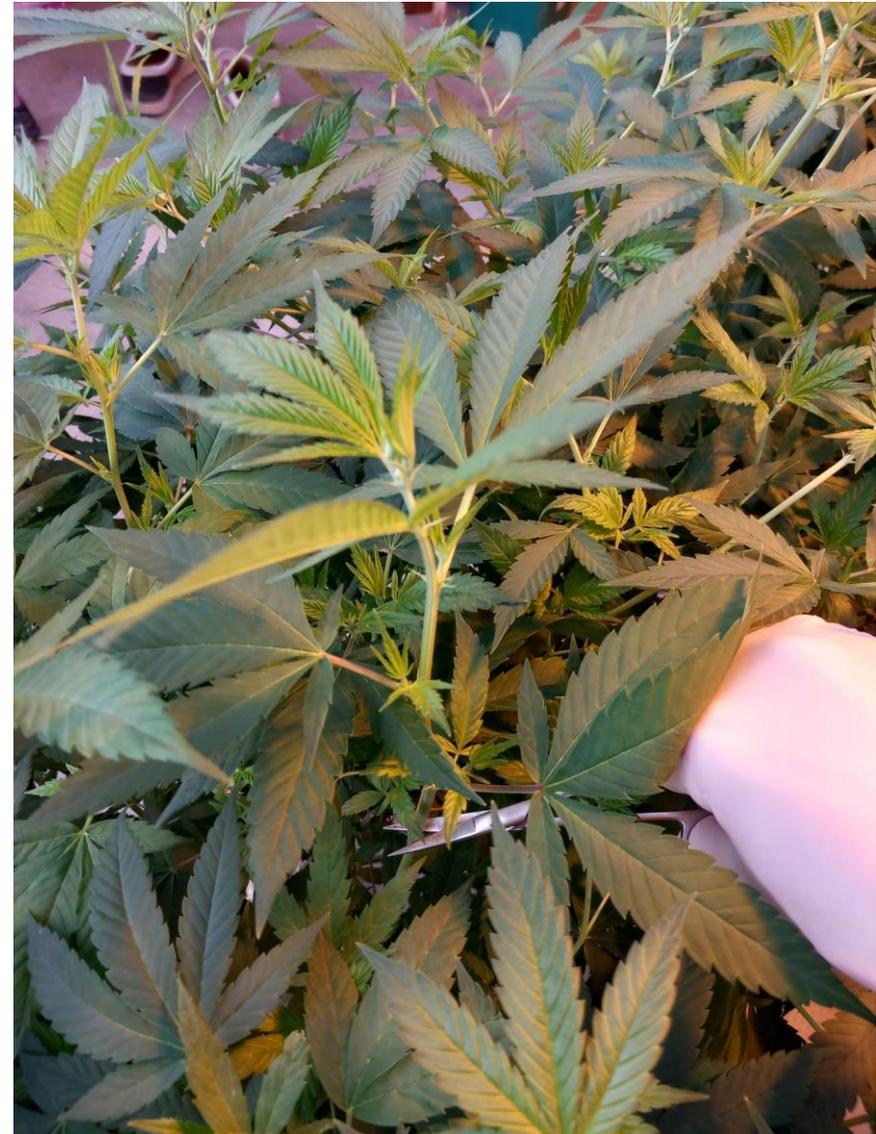


E' importante la disposizione e la gestione tramite potature delle piante all'interno dell'ambiente predisposto per evitare ombreggiamenti da sovrapposizione

Per evitare eccessivi stress alla pianta l'attività di taleaggio avviene dal 2° meglio 3° mese di vita.

Ogni 20-25 giorni possono essere prodotte dalle 4/6 fino 14/16 nuove talee, fino al 6° mese, poi in base alle condizioni della pianta il numero diminuisce.

Le piante madri anche se non ai fini della riproduzione devono comunque essere potate per diminuirne la vigoria e per mantenere un forma della chioma idonea allo spazio presente e al massimo numero di talee eseguibili





Le talee vengono eseguite tagliando un apice vegetativo di circa 30 cm con taglio in diagonale al di sopra dell'intersezione di una foglia.



Il rametto poi viene ridotto a circa 10/12 cm, ripulito delle foglie laterali mantenendo esclusivamente le foglie apicali che nel caso devono venire ridotte in numero o in dimensione, con tagli mirati, per diminuire l'evapotraspirazione dei giorni a seguire.





Le talee dopo taglio dalla pianta madre rimangono in radicazione prima dello spostamento circa 18/22 giorni, in questo lasso di tempo si formano le radichette che serviranno al loro prossimo e definitivo vaso.





crea

Consiglio per la ricerca in agricoltura
e l'analisi dell'economia agraria

Centro di ricerca

Cerealicoltura e Colture Industriali

C A M E D
CAnnabis MEDica nazionale



Dalla produzione alla **ricerca**,

l'esperienza del CREA nel progetto CAMED.

Rovigo, 9 febbraio 2023

Roberta Paris

CREA Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali (CREA-CI)

CONVEGNO

LA Cannabis MEDICA: PRESENTE E SVILUPPI FUTURI

I RISULTATI DEL PROGETTO CAMED

GIOVEDÌ, 9 FEBBRAIO 2023

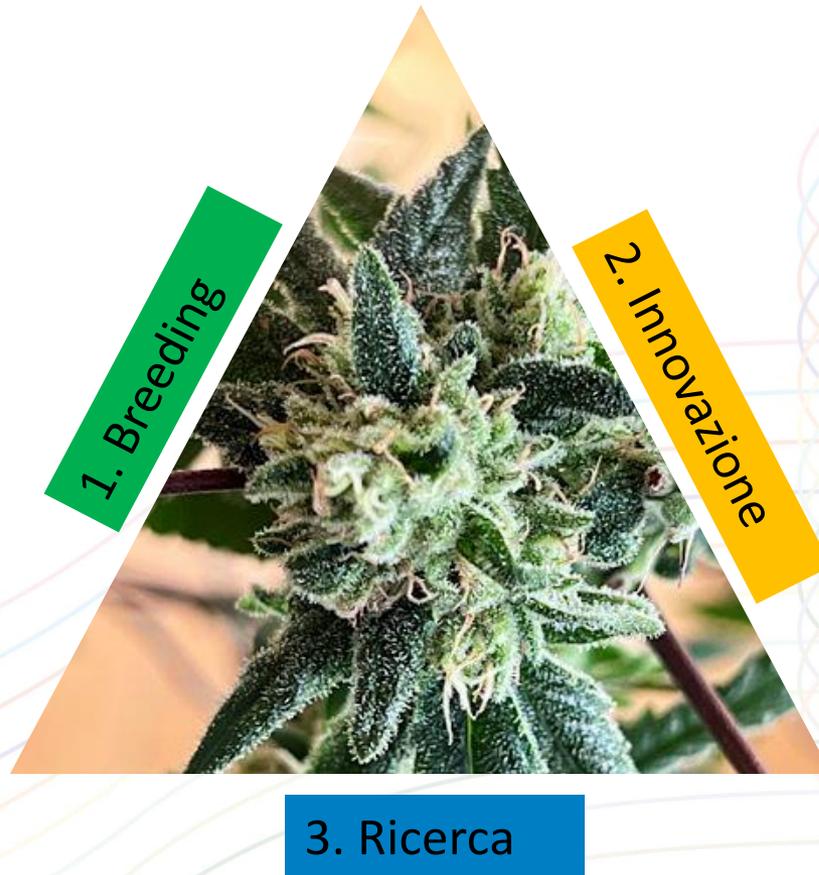
MUSEO DEI GRANDI FRUMI, SALA FLAMMINA
PIAZZA S. BARTOLOMEO, 18, 45100 ROVIGO

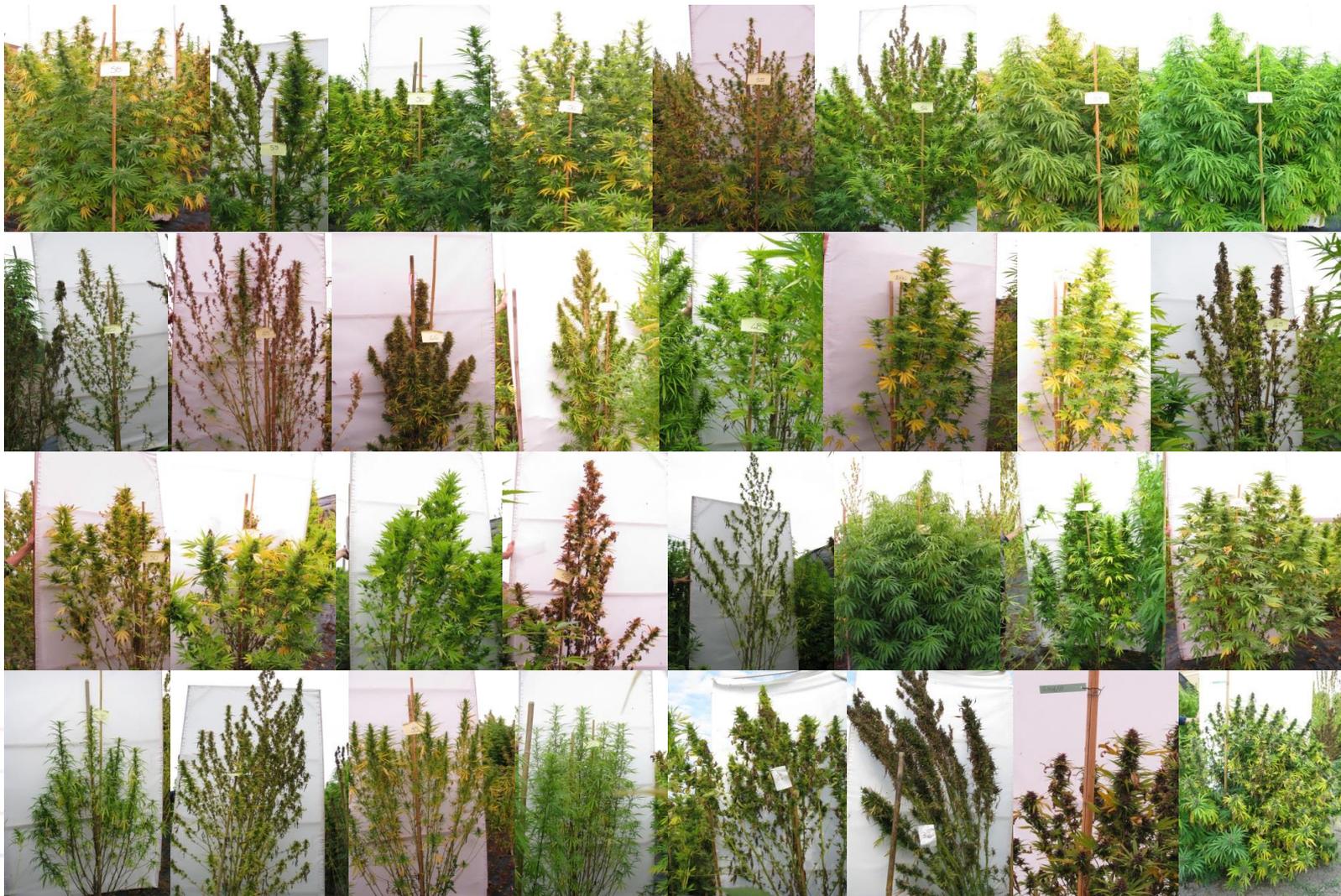
Convegno organizzato da:
CREA - Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, sede di Rovigo

Con il patrocinio di:
Comune di Rovigo
Ordine dei Dottori Agronomi e Forestali della Provincia di Rovigo

crea
C A M E D
CAnnabis MEDica nazionale

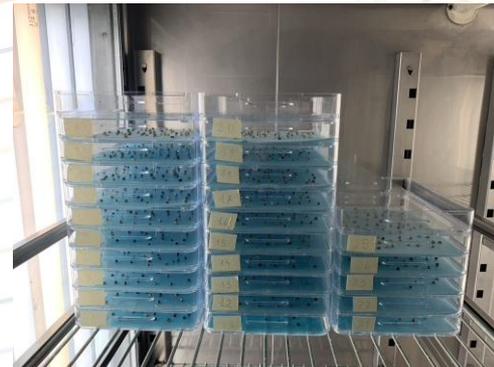
Miglioramento genetico per lo sviluppo di nuove linee ad **alto tenore di cannabinoidi** per scopi farmaceutici.





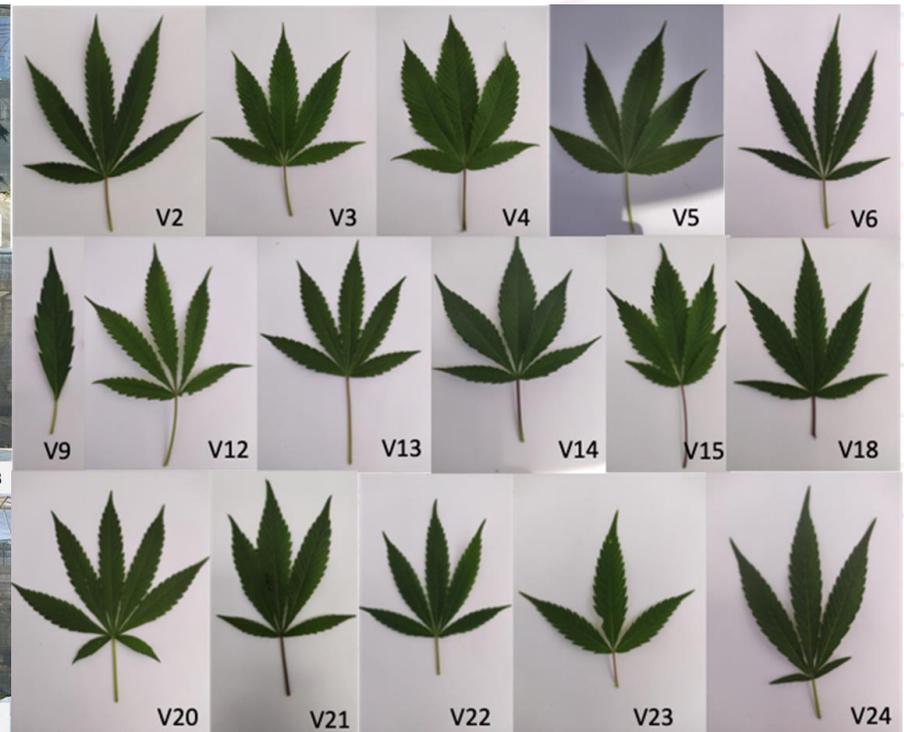
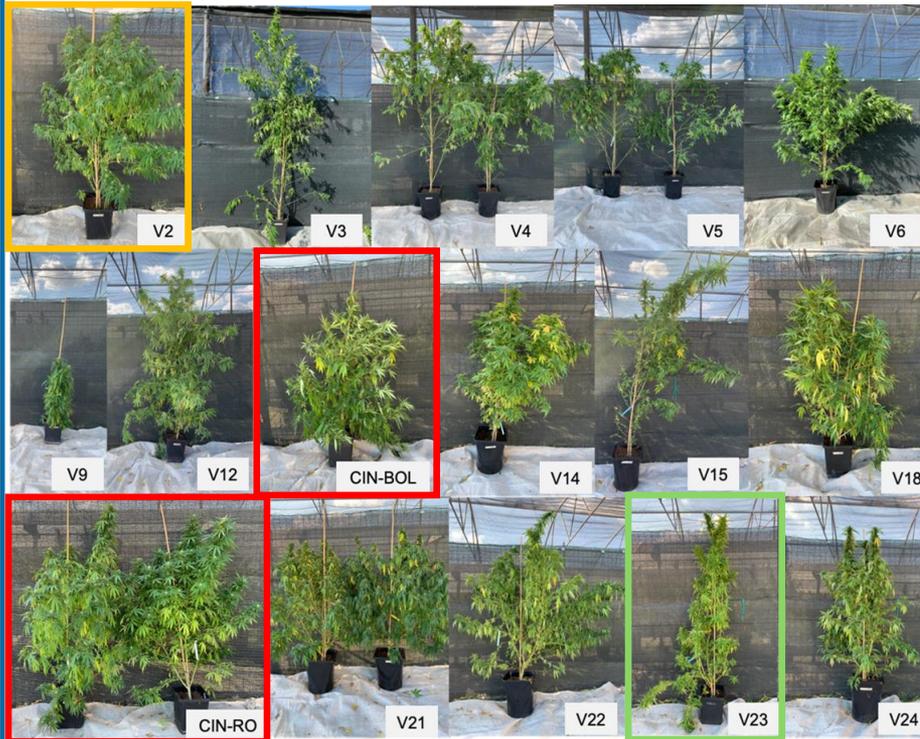
Linee/varietà scopo agro-industriale	95*
Linee/varietà scopo farmaceutico	50
F1 scopo agro-industriale	24
F1 scopo farmaceutico	39
F2 scopo agro-industriale	6
F2 scopo farmaceutico	7
TOT Collezione CREA-CI	221

* Di cui 42 varietà iscritte al registro europeo (dato aggiornato il 14 aprile 2022)



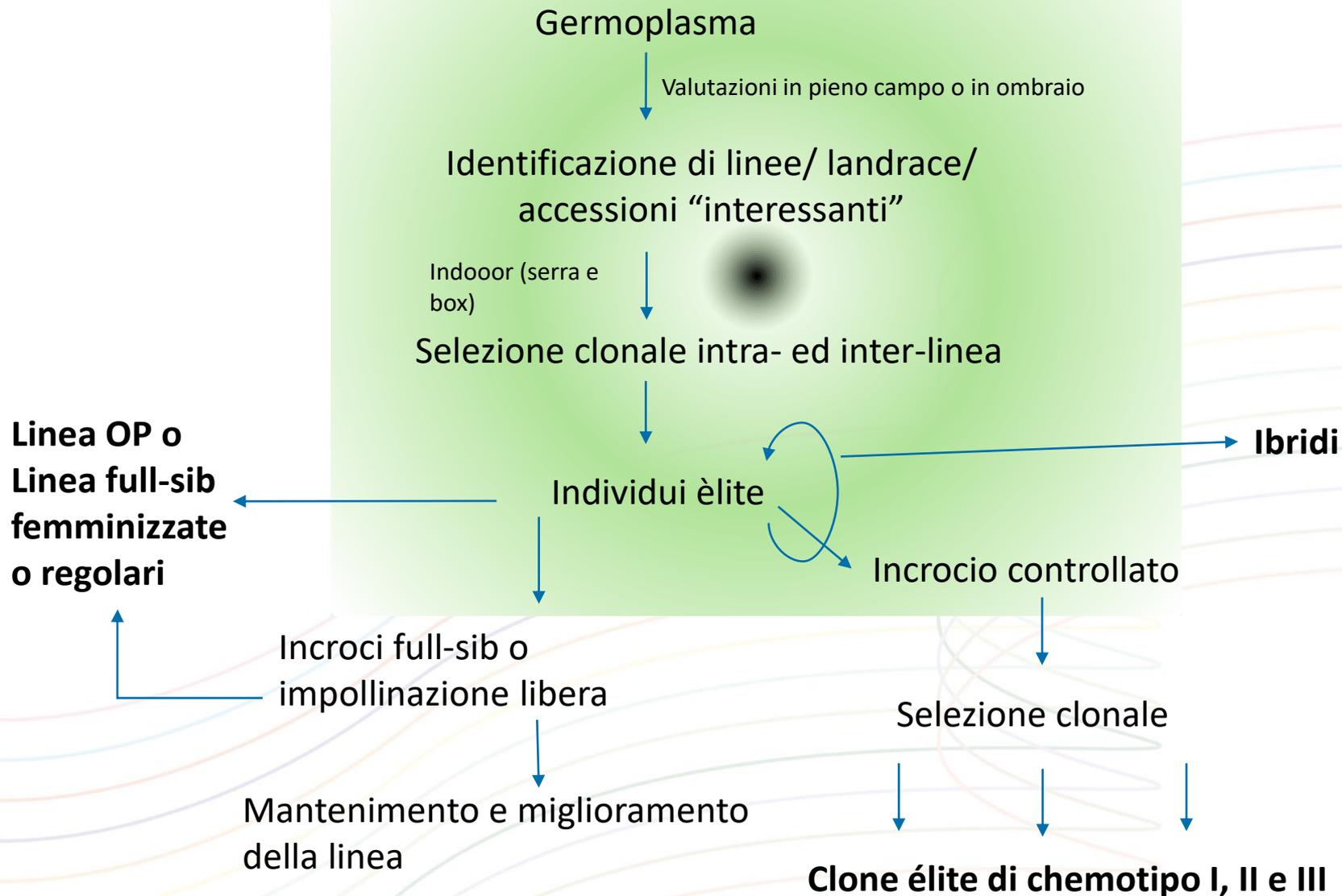


1. Breeding



Programmi di breeding per:

- Sviluppo di nuovo materiale ad elevato THC (chemotipo I)
- Sviluppo di nuovo materiale ad elevati THC e CBD (chemotipo II)
- Sviluppo di nuovo materiale ad elevato CBD (chemotipo III)

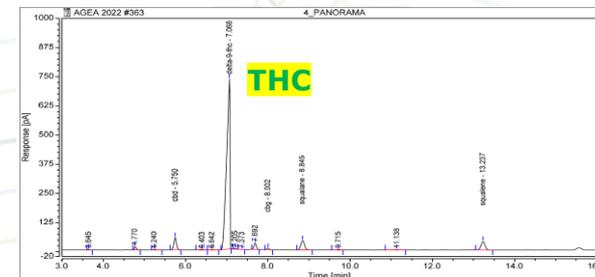
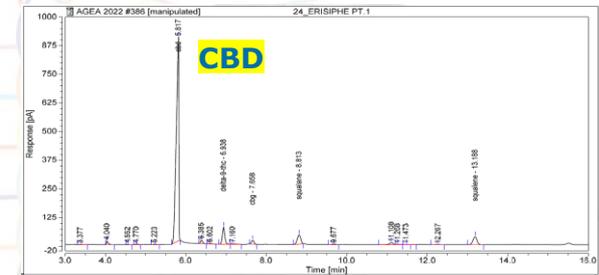




- GERMINABILITÀ
- VIGORE GERMINATIVO
- UNIFORMITÀ
- VIGORE
- HABITUS VEGETATIVO
(e.g. lunghezza internodi)
- RESISTENZA BIOTICA/ABIOTICA



- PRECOCITÀ
- RESA IN BIOMASSA FIORALE SECCA
- QUALITÀ INFIORESCENZA:
CANNABINOIDI(%)
RAPPORTO (THC/CBD)
PROFILO TERPENI







Marcatori Molecolari



Colture *in vitro*



I **marcatori molecolari**, sequenze di DNA genomico associate a caratteri di interesse, sono uno strumento indispensabile per:

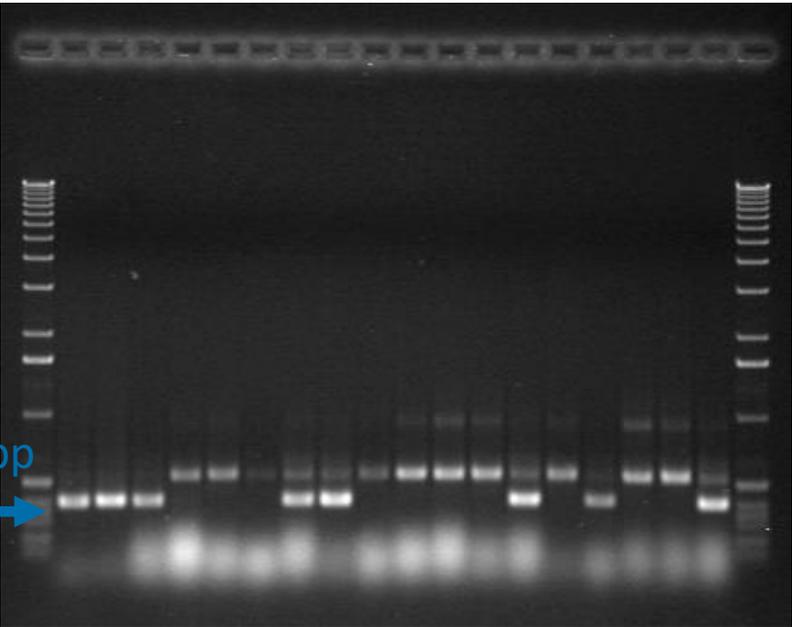
1. assistere il processo di breeding, sostituendosi alla fenotipizzazione
2. promuovere l'innovazione varietale nel settore del miglioramento genetico della canapa e di altre colture d'interesse agrario;
3. tipizzare in modo univoco le varietà (fingerprinting) per tutelare i diritti di costitutori;
4. distinguere le varietà industriali da quelle per uso medico o ricreazionale.



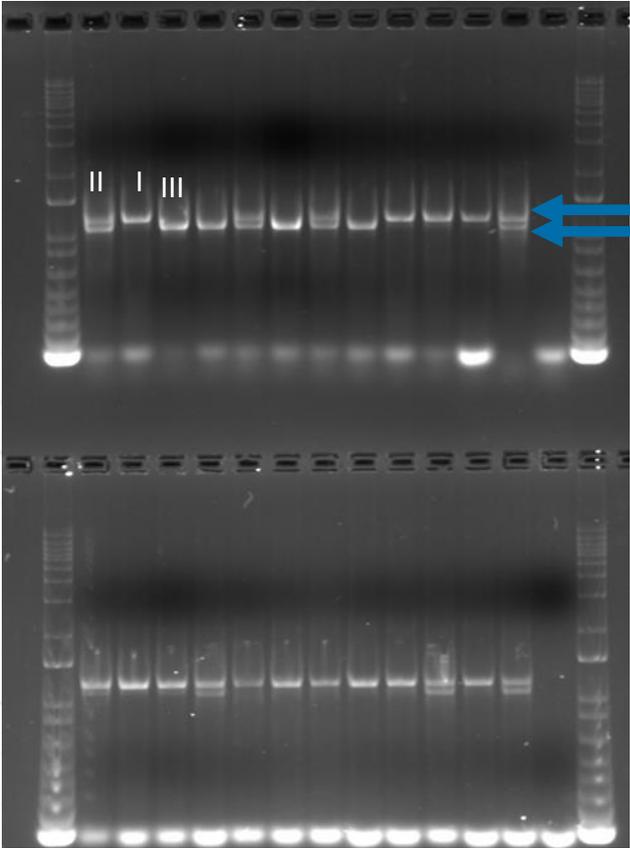
Marcatori per il sesso

Marcatori per il chemotipo

1Kb M M M F F F M M F F F F M F M F F M 1Kb



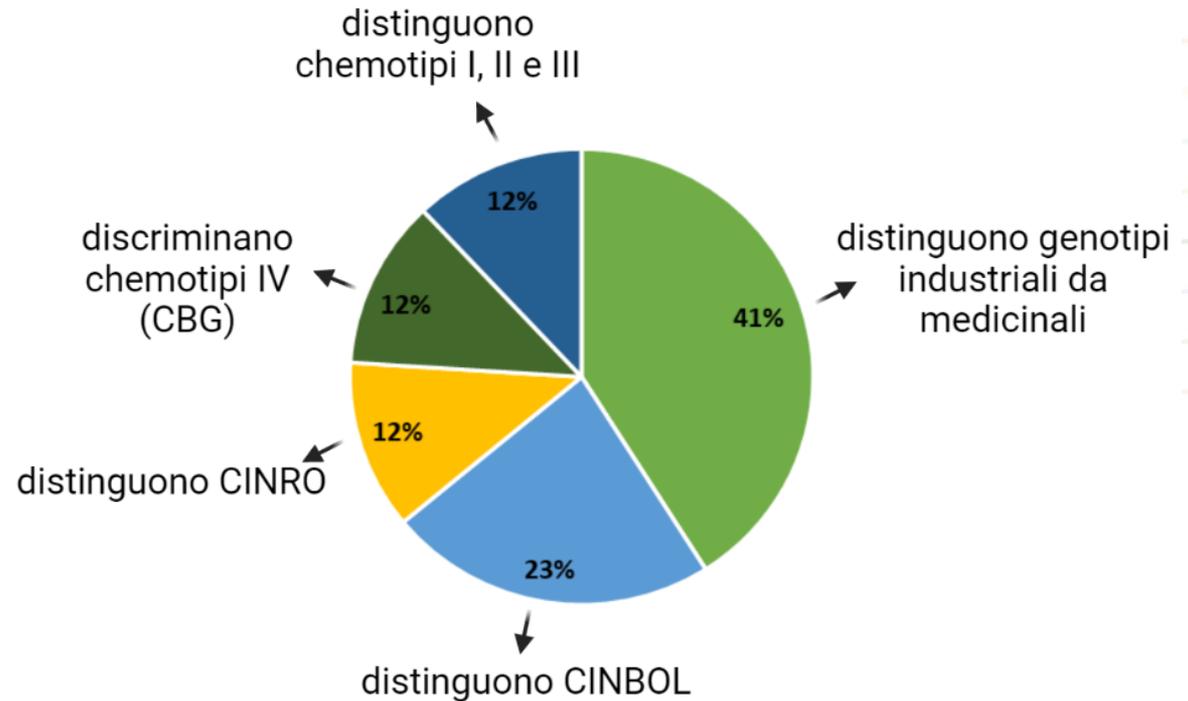
Mandolino *et al.*, 1999



1192 bp
1080 bp

Pacifico *et al.* 2006; Fulvio *et al.*, 2021

Identificazione di **marcatori SNP** altamente informativi a livello dei geni della sintesi di cannabinoidi, flavonoidi e terpeni (composti importanti per l'industria della *Cannabis* medica) e sviluppo di un protocollo per analisi post PCR tramite High Resolution Melting



La micropropagazione è un metodo di propagazione **altamente tecnologico**. Il processo, realizzato interamente in laboratorio e in ambiente sterile, permette a partire da meristemi, apici, gemme o micro-talee da piante madri controllate dal punto di vista genetico e sanitario, di mantenere in sterilità piante geneticamente identiche alle madri e di moltiplicarle in spazi ridotti e in minor tempo rispetto al taleaggio.

Mantenimento *in vitro* delle piante madri di CINRO e CINBOL



Mantenimento *in vitro* di piante èlite e di individui selezionati





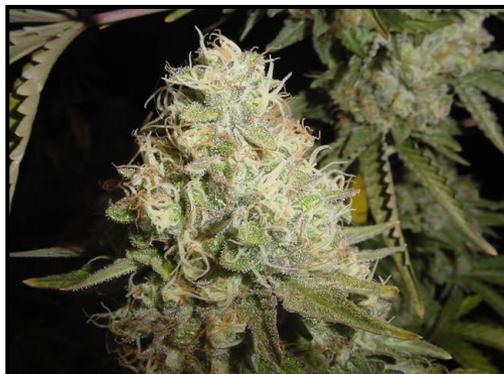
La coltura *in vitro*
a supporto della
selezione clonale

Genetica dei fitocannabinoidi:

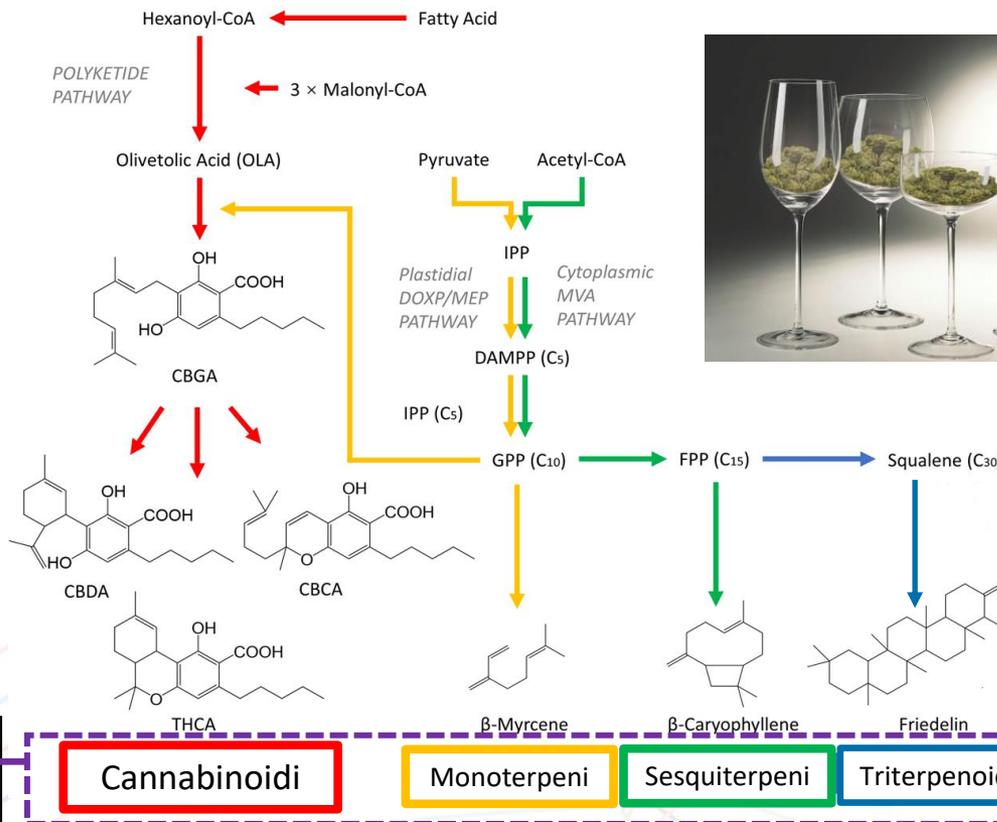
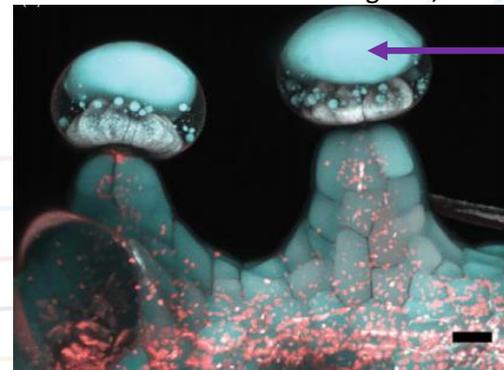


Regolazione del *pathway* di sintesi

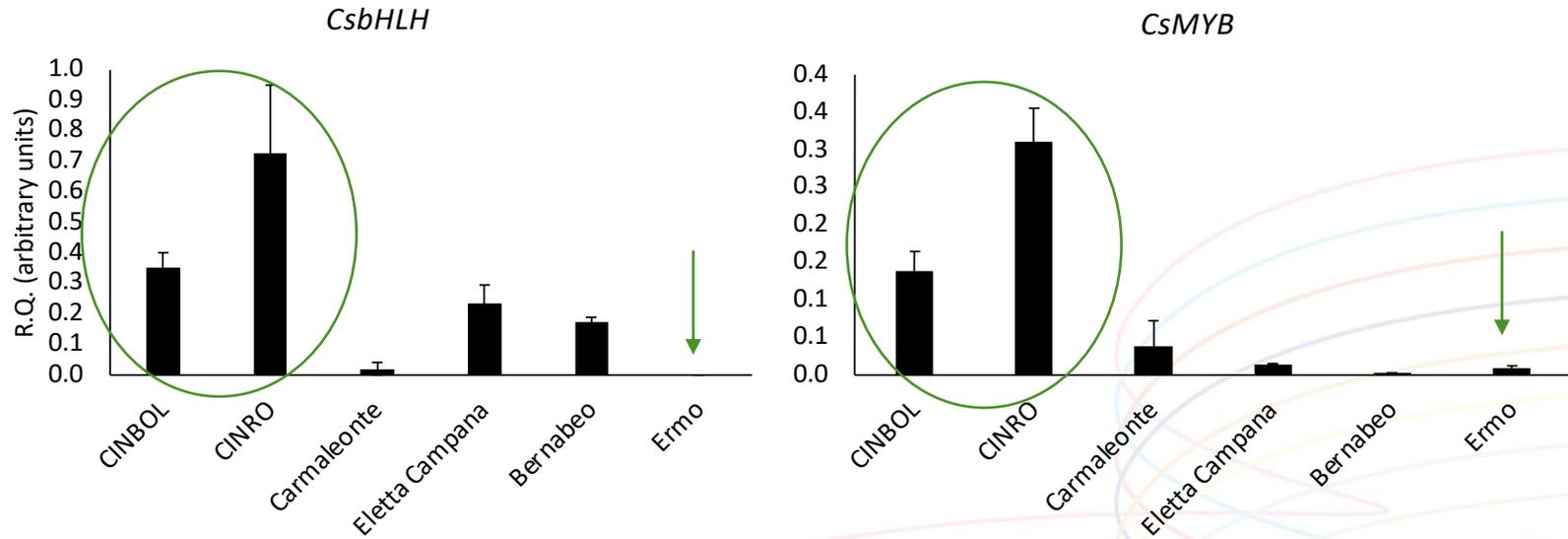
Interazione con i terpeni



Livingston, 2020



Jin et al., 2020



Differenziamento e sviluppo dei tricomi ghiandolari

Bassolino *et al.*, 2020; Lian *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014

Analisi del trascrittoma, cannabinoma e terpenoma

LAVORI IN CORSO



Chemotipo V

V23

Chemotipo III

V02

Chemotipo II

CINRO

- ✳ La conservazione e caratterizzazione del germoplasma di *Cannabis* salvaguarderà le future attività di ricerca, nonché di miglioramento genetico della canapa (non solo medica), da parte del CREA e di eventuali altri soggetti pubblici interessati.
- ✳ La disponibilità di ambienti di coltivazione indoor è indispensabile per il miglioramento genetico e la ricerca nel settore *Cannabis* medica.
- ✳ Sono stati identificati e caratterizzati diversi materiali di *pre-breeding* per lo sviluppo di nuove genetiche ad elevato tenore in cannabinoidi.
- ✳ Stiamo apportando nuove conoscenze sui meccanismi genetici responsabili della sintesi e accumulo di cannabinoidi in canapa.
- ✳ Innovazione e Ricerca sono fondamentali per far decollare la filiera della *Cannabis* medica e farla diventare un'eccellenza a livello nazionale.
- ✳ È necessario il confronto ed il dialogo costante con tutti gli attori della filiera per rispondere alle esigenze nazionali.

- ✦ Tirocinio con l'Alma Mater Studiorum – Università di Bologna nell'ambito del corso INTERNATIONAL HORTICULTURAL SCIENCE (79438 - Biotechnological Approach To Increase Sustainability). “A physiological, biochemical, and molecular characterization of new breeding lines of medical Cannabis.” Federico Moggi (supervisor: Prof. T.G. Toschi; tutor: R. Paris)
- ✦ Assegno di ricerca della durata di 12 mesi (08/2022-07/2023), sulla tematica “Miglioramento genetico per lo sviluppo di nuove genetiche di canapa ad elevato tenore in cannabinoidi Dr Andrea Villani
- ✦ Programma di Dottorato in “FOOD AND AGRICULTURAL SCIENCE, TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY” (sede: Reggio Emilia) sul tema di ricerca: Innovation in Breeding of medical Cannabis (Samuele Paganelli, tutor: Prof. Nicola Pecchioni, co-tutor: Dr. ssa Roberta Paris).
- ✦ Erasmus Traineeship (01/11/2022 – 31/03/2023) Simon Troha

Alberti I.; Paris R.; Montanari M.; Mandolino G.; Bassolino L.; Terracciano I.; Baldin C. Moschella A.; Battistini A.; Pecchioni N. Cannabis Medica Nazionale - Camed: Innovation And enhancement Of The Production Of Medical Cannabis Plant Material For National Demands And New Varietal Constitution For Pharmaceutical Use. AAIC 32nd Annual Meeting, Bologna, 5-8 Settembre 2021



Fulvio F.; Moschella A.; Alberti I.; Baldin C.; Paris R. Ottimizzazione di un protocollo per la micropropagazione di varietà italiane di Cannabis sativa per uso medico. Poster presentato al IV Convegno Nazionale sulla micropropagazione, Bari 12-14 2022



Giuseppe
Mandolino



Roberta Paris



Flavia Fulvio



Andrea Villani



Laura Righetti



Massimo
Montanari



Michele
Diozzi



Laura
Bassolino



Anna Moschella



Irma Terracciano



Samuele
Paganelli



Simon Troha



Vincenza Milito



Grazie per
l'attenzione