

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Vliv různých hydroponických technologií na
kvantitativní a kvalitativní parametry sušeného květenství
léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.)**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Daniel Melichar

**Obor studia: Rostlinná produkce
Vedoucí práce: Ing. Anežka Janatová**

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv různých hydroponických technologií na kvantitativní a kvalitativní parametry sušeného květenství léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.)" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____

Bc. Daniel Melichar

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval své vedoucí diplomové práce Ing. Anežce Janatové, dále vedoucímu katedry doc. Ing. Pavlovi Kloučkovi, Ph.D, dále konzultantce Ing. Adéle Fraňkové, Ph.D a konzultantovi Ing. Matějovi Božíkovi, Msc, Ph.D za jejich trpělivost, ochotu, věnovaný čas a rady, které mi věnovali při psaní této práce. Dále chci poděkovat své rodině, přítelkyni a všem kamarádům, kteří mě po celou dobu podporovali.

Vliv různých hydroponických technologií na kvantitativní a kvalitativní parametry sušeného květenství léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.)

Souhrn

V posledních letech se stále více diskutuje o možném terapeutickém využití konopí. Ukazuje se, že kanabinoidy v něm obsažené, zejména Δ^9 -tetrahydrokanabinol a kanabidiol mají velký potenciál v medicíně. Bohužel je cena konopí pro léčebné využití příliš vysoká a mnoho pacientů si ho nemůže z finančních důvodů dovolit. Cílem této práce je zjistit vliv různých hydroponických technologií na kvalitativní a kvantitativní parametry sušeného květenství léčebného konopí, což by mohlo vést ke zvýšení dostupnosti pro pacienty.

Cílem praktické části bylo zjištění vlivu vybraných pěstebních technologií na obsah dvou hlavních kanabinoidů Δ^9 -THC a CBD a vlivu na výnos. Obsah účinných látek v sušeném květenství každé rostliny byl analyzován pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC-FID) dle metodiky OSN. Účelem analýzy bylo zjistit, zda je možné doporučit vybraný genotyp (McLove) pro léčebné použití a také jakou pěstební technologii je vhodné použít pro dosažení co nejlepších výsledků.

Dle výsledků bylo zjištěno, že lze ovlivnit obsah Δ^9 -THC a CBD použitou pěstební technologií, ale vždy záleží i na jiných činitelích, jako jsou zkušenosti pěstitele, dávkování hnojiv, osvětlení, vzduchotechnika nebo choroby a škůdci. Celkově nejvyšší průměrný obsah Δ^9 -THC měla metoda aeroponie, která ale byla po dvou cyklech zrušena, protože tato technologie byla problematická. Nejvhodnější se ukázala metoda ATAMI WILMA, která měla nejvyšší výnosy ve všech čtyřech cyklech s celkovým průměrným výnosem 1274,93 g. Obsah Δ^9 -THC činil ($9,912 \% \pm 3,344 \%$) a obsah CBD byl ($0,337 \% \pm 0,074 \%$). ATAMI WILMA má nejnižší pořizovací náklady a zároveň je nejméně náročná na údržbu.

Vybraný genotyp (McLove) je stabilní z hlediska obsahu CBD. Obsahy Δ^9 -THC velmi kolísaly a nebyly příliš stabilní.

Klíčová slova: Léčebné konopí, delta-9-tetrahydrokanabinol, kanabidiol, stabilita, hydroponie, plynová chromatografie

Influence of Various Hydroponic Growing Technologies on the Quantitative and Qualitative Parameters of the Dried Inflorescence of Medical Cannabis (*Cannabis sativa* L.)

Summary

In recent years the potential therapeutic use of cannabis has been discussed. It appears that the cannabinoids, especially Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol have great potential in medicine. Unfortunately, the cost of cannabis for medical use is too high and many patients cannot afford it for financial reasons. The goal of this thesis is to determine the effect of various hydroponic technologies on the qualitative and quantitative parameters of the dried inflorescence of medicinal cannabis which could lead to increase availability for patients.

The goal of the practical part was to determine the influence of selected growing technologies on the content of two main cannabinoids Δ^9 -THC and CBD and the effect on yield. The content of active substances in the dried flowers was analyzed by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID) according to UN methodology. The purpose of the analysis was to find out if it is possible to recommend a selected genotype (McLove) for therapeutic use and also which cultivation technology to use to achieve the best results.

According to the results it was found that it is possible to influence the content of Δ^9 -THC and CBD by the cultivation technology, but it also depends on other factors such as the grower's experience, fertilizer dosage, lighting, air conditioning or disease and pests. Overall the highest mean content of Δ^9 -THC had the aeroponics method, which was discontinued after two cycles because this technology was problematic. The best method was ATAMI WILMA, which had the highest yields in all four cycles with a total average yield of 1274,93 g. The Δ^9 -THC content was (9,912 % \pm 3,344 %) and the CBD content was (0,337 % \pm 0,074 %). ATAMI WILMA has the lowest acquisition costs and also is the least maintenance-intensive.

The selected genotype (McLove) is stable in terms of CBD content. The Δ^9 -THC contents were different and not very stable.

Keywords: medical cannabis, delta-9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol, stability, hydroponics, gas chromatography

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíl práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Historie konopí	10
3.2 Botanika a taxonomie konopí (Cannabis spp.)	11
3.3 Legislativa konopí pro léčebné účely	12
3.4 Biologicky aktivní látky	14
3.4.1 Kanabinoidy.....	14
3.4.1.1 Biosyntéza kanabinoidů.....	16
3.4.1.2 Tetrahydrokanabinol Δ^9 -THC.....	17
3.4.1.3 CBD	19
3.4.1.4 Ostatní kanabinoidy	20
3.4.2 Terpeny.....	21
3.4.2.1. Synergie s kanabinoidy.....	22
3.4.3 Ostatní účinné látky v konopí.....	22
3.5 Endokanabinoidní systém.....	23
3.6 Pěstování rostlin v řízených podmínkách (Indoor).....	24
3.6.1 Hydroponické pěstební systémy	26
3.6.1.1 Nutrient Film Technique	29
3.6.1.2 Aeroponie	31
3.6.1.3 Atami Wilma	33
4 Materiál a metodika	35
4.1 Pěstování a výživa rostlin	35
4.2 Rostlinný materiál.....	36
4.3 Kvantifikace hlavních kanabinoidů	36
4.3.1 Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID)	37

4.3.2 Příprava kalibrační křivky	37
5 Výsledky	41
5.1 Aeroponie	41
5.2 Atami Wilma	44
5.3 Nutrient Film Technique	46
5.4 Porovnání pěstebních technologií.....	48
6 Diskuze.....	51
7 Závěr	54
8 Seznam zkratk.....	55
9 Seznam použité literatury:.....	57
10 Seznam grafů, obrázků a tabulek	65

1 Úvod

Konopí je jednou z nejstarších kulturních rostlin, která byla již v dávné minulosti používána k léčebným účelům. Pro svůj blahodárný vliv bylo konopí používáno již ve starověké Číně a dodnes je součástí ajurvédské medicíny. Díky psychoaktivní povaze hlavní účinné látky Δ^9 -tetrahydrokanabinolu (Δ^9 -THC) bylo konopí s vyšším obsahem této látky ve většině států světa dlouhou dobu kriminalizováno. Konopí je nejčastěji zneužívanou nelegální omamnou lákou nejen v Evropě, ale po celém světě.

Přípravky z konopí byly po tisíce let užívány pro léčbu celé řady zdravotních obtíží, ale stále je legální využití v medicíně kontroverzní, přestože o konopí a kanabinoidech bylo publikováno přes 15000 vědeckých článků, což dělá z konopí jednu z nejvíce prozkoumaných rostlin na světě. V současnosti je léčba konopím běžnou praxí v řadě zemí jako například: Nizozemí, Kanada, Izrael a USA. Do dnešního dne bylo popsáno více než 1000 kultivarů konopí, nicméně je velmi těžké určit, která z těchto odrůd je nejvhodnější pro lékařské a terapeutické využití. Konopí je považováno za efektivní podpůrnou léčbu u celé řady diagnóz, jako například k léčbě roztroušené sklerózy, Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby, nechutenství při léčbě rakoviny, AIDS a dalších onemocnění.

Se vzestupem užívání konopí pro léčebné účely jsou úzce spojené metody kultivace a použité systémy při jeho pěstování. Výsledný produkt, kterého chce pěstitel dosáhnout je co největší množství květů samičích rostlin, s co možná nejvyšším obsahem účinných látek. Květy lze použít pro následnou tvorbu extraktu, mastí a jiných výrobků. Existuje mnoho metod pro pěstování konopí, lišící se mezi sebou použitým substrátem a technologií kultivace. Jednotlivé systémy se od sebe mnohdy velmi výrazně liší. Některé jsou velmi jednoduché na obsluhu, v jiných je zase dosaženo maximálního růstu a produkce. Rozdíl je také v použitém osvětlení, či výživě rostlin. Každý ze systémů má své vlastní charakteristické rysy a samozřejmě výhody a nevýhody oproti ostatním.

2 Cíl práce

Hlavním cílem práce je sledovat výnosy sušeného květenství, dále obsah a stabilitu dvou hlavních kanabinoidů v léčebném konopí v průběhu čtyř pěstebních cyklů, v závislosti na různém způsobu hydroponického pěstování. Dalším cílem je na základě naměřených dat posoudit, zda je možné doporučit vybraný genotyp (McLove) pro léčebné použití a také jakou pěstební technologii je vhodné použít pro dosažení co nejlepších výsledků.

Hypotézy:

1.Výnos květenství i obsah hlavních kanabinoidů lze ovlivnit použitou pěstební technologií.

2.Stabilita obsahu kanabinoidů je závislá na genotypu a během jednotlivých pěstebních cyklů by se neměla měnit.

3 Literární rešerše

3.1 Historie konopí

Nejstarší záznam o použití konopí člověkem pochází z ostrova Tchaj-wan, ležící u pobřeží Číny a jsou staré více než 10 000 let (doba kamenná). Jedná se o úlomky keramiky ozdobené konopným vláknem (Abel 1980). Původ rostliny můžeme najít v centrální Asii nebo v Číně, kde se konopí na vlákno pěstovalo již před 5000 lety (Gabrielová 2008). Konopí patří mezi první rostliny, které člověk začal pěstovat. Bylo zjištěno, že konopí bylo pěstováno za účelem výroby tkanin, provazů, oleje a v neposlední řadě jako lék. Jsou důkazy o jeho používání jako psychotropní látky, například při náboženských obřadech (Booth 2004). První zmínky o použití konopí pro léčebné využití jsou zaznamenány v lékopisu Pen-Tsao Ching, otce tradiční čínské medicíny císaře Shen-Nunga a jsou z období 2700 let př. n. l. (Mathre 1997). Jeden z nejzachovalejších důkazů o použití konopí pro lékařské účely, je nález z pohřebiště v poušti Gobi ve střední Asii, starý 2800 let. Byly nalezeny pouze samičí části rostlin, což svědčí o tom, že si lidé byli vědomi většího množství tetrahydrokanabinolu (Δ^9 -THC) v samičím květenství (Russo et al. 2008). Do Evropy se konopí dostalo v 7. století př. n. l., a to zásluhou Skytů. Přes jižní část Ruska se konopí dále šířilo severní cestou přes Litvu, Nizozemí a Švédsko až do Anglie a jižní cestou přes Řecko a Itálii se konopí rozšířilo do severní Afriky a Španělska odkud se díky španělským kolonistům dostalo až do Ameriky (Gabrielová 2008). Konopí hrálo vekou roli ve formování Ameriky. Koloniální úředníci v 18. stol. podporovali pěstování konopí, z něhož se pletla lana, provazy a byl to také zdroj pro papírenský průmysl. Po válce severu proti jihu se stalo konopí dokonce měnou. Prezidenti George Washington a Thomas Jefferson také na svých pozemcích tuto rostlinu pěstovali (Debnár 2005). Na konci 19. století se stalo konopí součástí mnoha medikamentů nejen na lékařský předpis. K tomuto kroku vedlo zjištění lékařů a vědců, že konopí a jeho deriváty jsou účinné proti celé řadě onemocnění. Konopí bylo označeno za lék a bylo předepisováno na nemoci jako jsou lepra, vzteklina, tetanus, dna, křečové onemocnění a mnoho dalších (Conrad 2001).

3.2 Botanika a taxonomie konopí (*Cannabis* spp.)

Konopí a jeho klasifikace do určité čeledi byl a stále je problém. Botanici nejprve mysleli, že patří do jedné rodiny s kopřivami (čeleď kopřivovité, *Urticaceae*), poté ho zařadili mezi morušovníkovité (*Moraceae*), kde můžeme nalézt i fikovník. Dnes patří konopí do samotné čeledi, do konopovitých (*Cannabaceae*), (Booth 2004).

Konopí je jednoletá bylina rostoucí v každém podnebí s výjimkou pouští a polárních oblastí. Jedná se o kvetoucí, semennou rostlinu. Její kořenový systém se skládá z hlavního kořene, dorůstající do hloubky až 40 centimetrů a mnoha postranních kořínků. Vzhled rostliny je podobný kořenovému systému. Z pod povrchu půdy vyrůstá jeden hlavní stonek, ze kterého vyrůstají další větve. Listy konopí jsou dlanité a pilovité a mění se v závislosti s tím, jak rostlina dozrává. První listy mají pouze jeden lístek, plně vzrostlá rostlina konopí má obvykle sedmi až devíti čtené listy, nicméně není neobvyklé, že může mít i jedenácti čtené listy (Adams 2012). Konopí je dvoudomý typ rostliny, nicméně pohlavní fenotyp rostlin konopí projevuje značnou flexibilitu a s tím je spojen výskyt hermafroditních jedinců, nebo oboupohlavních květů (*monoecie*) (Moliteri 2004). Samčí rostliny jsou zpravidla vyšší s delšími internodii a dozrávají dříve. Květy se vyskytují téměř po celé rostlině, kde vytváří malé hrozny, ze kterých se po dozrání vypustí pyl. Samičí rostlina vytváří hrozny květů skládající se z pohárků a pestíků (Miovský et al. 2008). Kvetení u konopí nastává, když se zkracuje den, jelikož je konopí krátkodenní rostlina. V uzavřeném pěstebním prostoru můžeme dosáhnout začátku kvetení uměle a to zkrácením fotoperiody na méně než 12 hodin (Knight et al. 2010).

Konopí je rozděleno do dvou skupin. Technické konopí a konopí určené pro léčebné účely. Nicméně technické konopí může být také léčivé, jelikož může obsahovat velké množství CBD, terpenů a ostatních látek. O CBD je známo, že má větší spektrum účinku než Δ^9 -THC. Kritérium, které rozhodne, do které skupiny dané konopí patří, je obsah Δ^9 -THC v sušině (Rustichelli 1998). Konopí lze rozmnožovat vegetativně takzvaně „řízkováním“ nebo generativně (Clark 1993).

Konopí seté botanicky správně začlenil až Carolus Linnaeus, švédský „otec botaniky“, jenž ho v roce 1753 opatřil botanickým názvem (*Cannabis sativa*). Dorůstá výšky až 6 metrů (Booth, 2004). Málo se větví a obsah účinných látek je nižší, než u konopí indického. Konopí seté má běžně obsah Δ^9 -THC od 0,01 % do 13 % (Miovský et al. 2008). Jeho účinky jsou povznášející, povzbuzující, stimulující, uvolňující a omamné (Adams 2012).

Konopí indické (*Cannabis sativa*, *ssp. indica*) je kmen konopí setého. Rostlina je menšího vzrůstu, bujně olistněná s širšími listy, nežli je tomu u konopí setého a velmi bohatě se větví (viz Obrázek č.1).

Konopí rumištní (*Cannabis sativa*, *ssp. ruderalis*), jehož původní domovinou je Sibiř, jako jediný z kmenů konopí setého není fotoperiodické, což znamená, že po dosažení pohlavní zralosti začíná okamžitě kvést. Tohoto faktu se využívá k vytvoření brzy kvetoucích hybridů z rostlin, jež kvetou pomalu, jako je například konopí seté (Adams 2012). Obsah aktivních látek nedosahuje kvantity jako u výše popsaných druhů, ale jejich obsah rozhodně není bezvýznamný (Booth 2004).



Obrázek č.1: Rozdíl mezi *Cannabis sativa* a *Cannabis sativa*, *ssp. indica*

3.3 Legislativa konopí pro léčebné účely

V České republice je možné pěstovat rostliny konopí s obsahem Δ^9 -THC maximálně 0,3 % k průmyslovým, technickým či zahradnickým účelům (Miovský at al. 2008). Konopí pro medicínální účely, které může mít obsah Δ^9 -THC vyšší než 0,3 %, lze pěstovat pouze na základě licence vydané Ministerstvem zdravotnictví České republiky (Mz ČR). Pěstovat konopí pro léčebné použití může jen taková právnická nebo podnikající fyzická osoba, která splnila podmínky zadávací dokumentace vydané Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL). Veškeré náležitosti týkající se léčebného konopí má na starosti Státní agentura

pro konopí pro léčebné použití (SAKL). SAKL uděluje licence k pěstování konopí pro léčebné použití, dále zajišťuje výkup vypěstovaného a sklizeného konopí a jeho distribuci (SAKL).

S platností od 1. dubna roku 2013 v České republice platí zákon č. 50/2013 Sb., zákon, kterým se mění zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů ve znění pozdějších předpisů, zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů. Tento zákon měl zpřístupnit pacientům léčebné konopí legální cestou. Na základě elektronického předpisu mělo být pacientům dostupné v lékárnách. S dekriminací léčebného konopí v České republice souvisí další právní předpisy a jsou to zákon č. 137/2006 Sb., o veřejných zakázkách a zákon č. 552/1991 Sb., o státní kontrole. V červenci roku 2013 byl zákon č. 50/2013 Sb., doplněn vyhláškou č. 221/2013 Sb., která byla 4. září 2015 novelizována vyhláškou č. 236/2015 Sb. Touto vyhláškou se stanovují podmínky pro předepisování, přípravu, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. Dále vyhlášky č. 84/2008 Sb., o správné lékařské praxi, bližších podmínkách zacházení s léčivy v lékárnách, zdravotních zařízení a u dalších provozovatelů a zařízení vydávající léčivé přípravky a vyhláška č. 54/2008 Sb., o způsobu předepisování léčivých přípravků, údajích uváděných na lékařském předpisu a o pravidlech používání lékařských předpisů. Vyhláška č. 236/2015 Sb. přesně stanovuje kvalitativní parametry, které konopí musí splňovat. Dále udává, že konopí může být podáno pacientům, kteří jsou starší 18 let a to v množství nepřesahující 180 gramů sušeného konopí za jeden měsíc. Indikace, na které je možné léčebné konopí předepsat, je např.: chronická neutišitelná bolest (zejména bolest v souvislosti s onkologickým onemocněním, bolest spojená s degenerativním onemocněním pohybového systému, systémovým onemocněním pojiva a imunopatologickými stavy, neuropatická bolest, bolest při glaukomu).

3.4 Biologicky aktivní látky

V roce 1914 byl patentován proces pro extrakci farmakologicky účinných látek z konopí, ale bylo zapotřebí nových technik pro izolaci čistých složek. V první polovině 20. století byl izolován a byla popsána chemická struktura nejprve kanabinolu (CBN) (slabě psychotropní látka) a později kanabidiolu (CBD) (nep psychotropní látka) (Fišar 2009). Za nejúčinnější složku konopí jsou považovány kanabinoidy, které jsou často spojovány s analgetickými, protizánětlivými, antioxidačními a mnoha dalšími účinky. Nicméně rostlina konopí produkuje dalších nejméně 483 chemických sloučenin. Mezi primární metabolity konopí patří vitamíny, antioxidanty, aminokyseliny, mastné kyseliny nebo sacharidy (ElSohly 2007). Mezi sekundární metabolity, které rostlina konopí produkuje patří: kanabinoidy, terpeny, flavonoidy, alkaloidy a lignany (Turner et al. 1980). Nejprozkoumanější a také farmakologicky nejdůležitější biologicky aktivní látky konopí jsou kanabinoidy a zejména Δ^9 -THC a CBD (Miovský et al. 2008).

3.4.1 Kanabinoidy

Cannabis sativa L. obsahuje více než 480 chemických látek, z nich největší zájem vědců je o kanabinoidy, které ovlivňují neurotransmisi, čímž pravděpodobně modifikují plasticitu mozku (Tyrlíková 2012). Mezi kanabinoidy patří všechny látky, které mohou být rozpoznány kanabinoidním systémem. V dnešní době jsou to tři základní skupiny kanabinoidů, z nich první jsou rostlinné kanabinoidy nazývané fyto kanabinoidy, druhou skupinou jsou endogenní kanabinoidy neboli endokanabinoidy, ty jsou syntetizovány podle potřeby v těle organismu a do poslední skupiny patří syntetické kanabinoidy, které jsou uměle vytvořené (Fišar 2008). Ačkoliv v 60. letech minulého století byly izolovány kanabinoidy jako jsou kanabidiol (CBD), kanabigerol (CBG), kanabichromen (CBC), kanabidivarin (CBDV) a tetrahydrokanabivarin (THCV), drtivá většina výzkumu se zaměřovala právě na psychoaktivní Δ^9 -THC (Russo 2011).

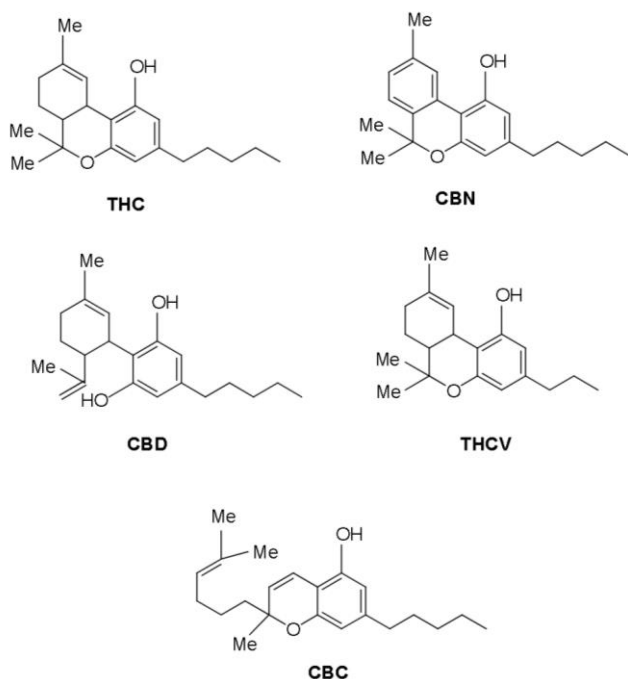
V konopí se nachází 144 fyto kanabinoidů s typickou 21 – uhlíkovou strukturou (Nečas 2011). Po chemické stránce patří fyto kanabinoidy mezi terpeno-fenolické sloučeniny, které jsou typické pouze pro konopí (Brenneisen 2007). Některé fyto kanabinoidy neprodukuje přímo rostlina konopí, ale jsou produktem rozpadu jiných fyto kanabinoidů (Izzo et al. 2009). Kanabinoidy, které jsou nejvíce zastoupeny v konopí jsou Δ^9 -THC a CBD. Nicméně u některých chemotypů konopí bylo zjištěno, že kanabinoid THCV převyšuje hladinu Δ^9 -THC

a CBD (Hillig et Mahlberg 2004). Chemická struktura kanabidiolu (CBD), jakožto jednoho ze dvou hlavních kanabinoidů byla objasněna teprve roku 1963, ale již roku 1940 proběhla jeho izolace (Mechoulam et Shvo 1963).

Obsah účinných látek v rostlinách konopí je značně nestálý jak po stránce kvantitativní, tak po stránce kvalitativní (nejzásadnější je poměr Δ^9 -THC: CBD). Tyto parametry jsou určovány jak genetickými vlastnostmi rostlin, tak vnějšími vlivy jako jsou: složení půdy, množství dodaných živin, osvětlení, teplota, vlhkost vzduchu a v neposlední řadě choroby a škůdci (Lužný et Povolná, 2013). Největší vliv na výnos a obsah kanabinoidů má genetická predispozice pěstovaných rostlin (Brenneisen 2007).

Teplota hraje roli při tvorbě kanabinoidů, ale pouze ve spojení s dostupnou vlhkostí. Boucher (1974) uvádí, zvýšení obsahu kanabinoidů při pěstování konopí při teplotě 32 °C oproti pěstování při teplotě 22 °C, nicméně se zvýšením teploty souvisí ztráta vody v důsledku rychlého odpařování a transpirací rostlinami, což musí pěstitel při kultivaci brát v potaz. Latta et Eaton (1975) uvádějí, že hořčík (Mg) a železo (Fe) jsou důležité pro syntézu Δ^9 -THC, což naznačuje, že tyto živiny mohou sloužit jako enzymové kofaktory. Bylo zjištěno, že velký vliv jak na výnos, tak na obsah kanabinoidů má světlo. Při pokusu bylo použito vždy 16 rostlin na 1 m², genetika Super Skunk a rostliny byly pěstovány pod 600W a 400W světlem. Rozdíl průměrného výnosu na 1 m² činí 105 g. Obsah Δ^9 -THC je pod 400 W světlem 14,3 % a obsah CBD je 0,3 %. Oproti tomu rostliny pěstované pod 600 W světlem mají obsah Δ^9 -THC 15,2 % a CBD 0,4 % (Vanhove et al. 2011).

Kanabinoidy jsou syntetizovány v sekrečních buňkách v trichomech, které se nachází na povrchu všech částí rostliny s výjimkou semen a kořene. Největší koncentrace jich je u neoplozených samičích rostlin (Russo 2011). Syntéza kanabinoidů probíhá především na vrcholu stopky a v hlavičce žlásky. Vzniklá pryskyřice je tvořena kanabinoidy z-80-90 % (Dupal 1994).

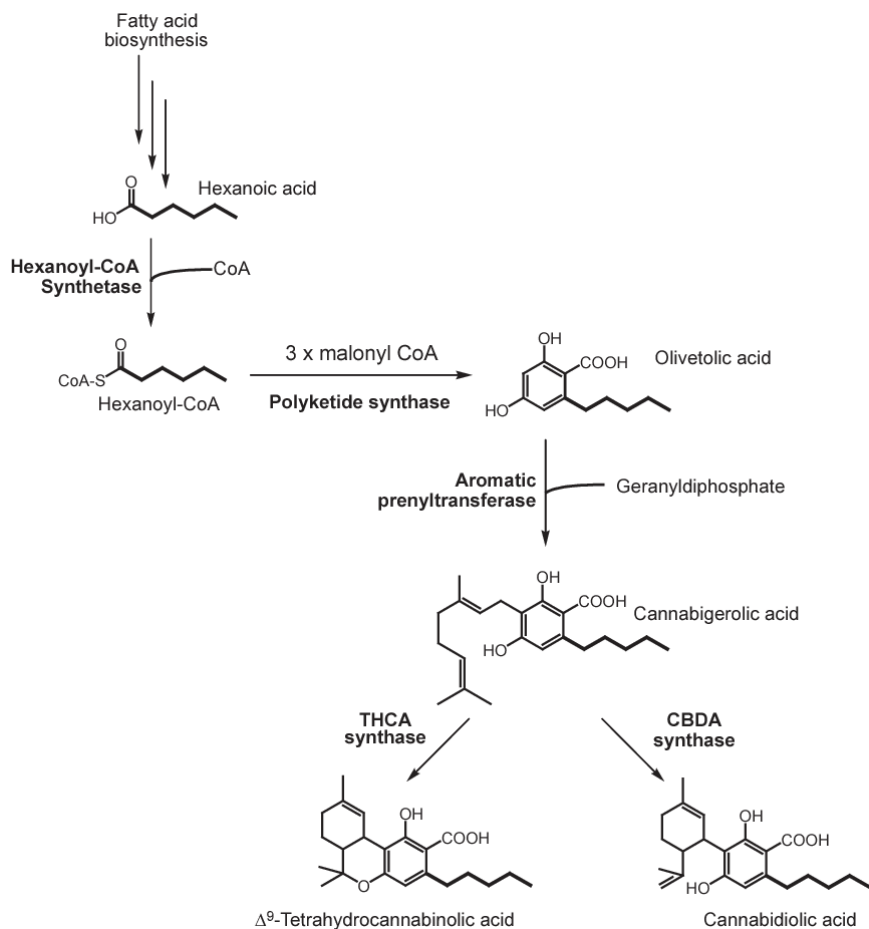


Obrázek č. 2: Chemická struktura fytkanabinoidů (Rosenthaler et al. 2014)

3.4.1.1 Biosyntéza kanabinoidů

Prvním meziproduktem je v procesu biosyntézy kanabinoidů kyselina olivetolová. Zmíněná kyselina reaguje s geranyl difosfátem nebo s neryl difosfátem za vzniku kanabigerolu, přesněji řečeno kyseliny kanabigerolové (CBGA), která je výchozí látkou pro ostatní kanabinoidy (Fellremeier et Zenk 1998). To činí z olivetolové kyseliny velmi důležitý metabolit v procesu biosyntézy kanabinoidů, nicméně samotná biosyntéza olivetolové kyseliny není doposud zcela objasněna. Vzhledem k její chemické struktuře je možné, že je syntetizována cyklizací polyketosloučeniny. Tento polyketid je tvořen kondenzací molekuly n-hexanoyl-CoA s třemi molekulami malonyl-CoA. Kondenzační a cyklizační reakce jsou katalyzovány polyketidsyntázou (Raharjo et al. 2003). Konopí produkuje kanabinoidy primárně ve formě karboxylových kyselin (Russo et McPartland 2003). Mezi jedny z nejdůležitějších karboxylových kyselin patří kyselina Δ -9-tetrahydrokanabinolová (THC-A) a kyselina kanabidiolová (CBDA), které jsou syntetizovány z jejich prekurzoru CBGA (Wohlfarth et al. 2011). Kanabinoidy jsou syntetizovány v nestabilní formě karboxylových kyselin, které se v rostlině nachází v daleko vyšších koncentracích oproti kanabinoidům (Mechoulam et Ben-Shabat 1999). K tomu, aby se z kyselin staly aktivní neboli neutrální

kanabinoidy, musí projít dekarboxylací teplotou v rozmezí 130 až 170 °C nebo neenzymatickými reakcemi (vlivem tepla, světla) (Sirikantaramas et al. 2005).



Obrázek č. 3: Schéma biosyntézy kanabinoidů (Stout et al 2012)

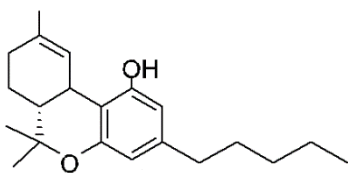
3.4.1.2 Tetrahydrokanabinol Δ^9 -THC

Δ^9 -THC je hlavní psychoaktivní složkou *Cannabis sativa* (Zima 2012). Strukturu Δ^9 -THC téměř správně určil Adams – struktura byla správná, ale nepodařilo se mu správně určit polohu dvojné vazby v terpenickém cyklu. Gaoni et Mechoulam (1964) popsali chemickou strukturu delta-9-trans-tetrahydrokanabinolu neboli Δ^9 -THC a dále uvedli, že má psychoaktivní účinky. Δ^9 -THC patří mezi omamné látky, proto je obsah Δ^9 -THC v rostlině důležitým faktorem pro rozlišení fenotypu dané rostliny. V roce 1964 byla publikována práce Františka Šantavého, ve které určil správně nejen polohu dvojné vazby v terpenickém cyklu kanabidiolu, kyseliny kanabidiolové a tetrahydrokanabinolu, ale také správně určil jejich absolutní konfiguraci. Po zjištění psychoaktivní látky zbývalo určit, jak vlastně působí na lidský organismus. Až v roce 1988 William Devane objevil v mozku potkanů kanabinoidní receptory, na které se Δ^9 -THC váže (Hanuš 2012).

Δ^9 -THC je v rostlině *Cannabis sativa* L. typu „drug“ nejběžnější fytoKANABINOID (de Meijer et al. 2003). Vyskytuje se téměř ve všech kultivarech konopí, nicméně v různém množství, od stopového až po 95 % ze všech obsažených KANABINOIDŮ (Dupal 1994). Vzniká dekarboxylací kyseliny tetrahydroKANABINOLové a je nestálý na světle. Při přímém osvětlení a špatném skladování podléhá Δ^9 -THC oxidaci na KANABINOL (CBN) (Razdan et al. 1972). Maximální obsah Δ^9 -tetrahydroKANABINOLU získaný dekarboxylací kyseliny tetrahydroKANABINOLové při simulaci kouření může překročit 30 % (Dussy et al. 2005).

TetrahydroKANABINOL (Δ^9 -THC) se obvykle rozumí izomer Δ^9 -tetrahydroKANABINOL (Δ^9 -THC, dříve Δ^1 -3,4-trans-tetrahydroKANABINOL). Chemicky se jedná o (6aR, 10aR)-6a,7,8,10a-tetrahydro-6,6,9-trimethyl-3-pentyl-6H-dibenzo[b,d]pyran-1-ol ($C_{21}H_{30}O_2$, MW 314,47). Δ^9 -THC aktivuje KANABINOIDNÍ RECEPTORY typu 1 (CB1) a typu 2 (CB2) (Fišar 2006). Strukturální vzorec Δ^9 -THC je uveden na obrázku č. 4. Z farmakologického hlediska se pod Δ^9 -THC zahrnuje i propylderivát THC a delta-8tetrahydroKANABINOL, ačkoli zmíněný Δ^8 -THC vykazuje o 20 % nižší psychoaktivní efekt oproti Δ^9 -THC (Brenneisen 2007). Δ^9 -THC se může do krevního řečiště dostat inhalací, orálním požitím nebo intravenózně. První metabolismus nastává v plicích nebo v játrech, kde je hlavním aktivním metabolitem 11-hydroxy- Δ^9 -THC (11-OH-THC), tento metabolit se mění na nepsychoaktivní 11-nor-9-karboxy- Δ^9 -THC, jenž se váže na tukovou tkáň (Fišar, 2006). Zhruba po 30 minutách se tento metabolit zpět uvolní do krevního oběhu a dostává se do mozku, kde působí psychoaktivně (Stafford 1997).

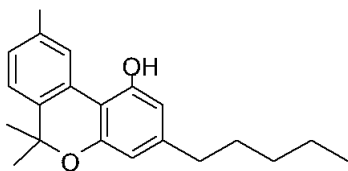
Δ^9 -THC je farmakologicky nejvýznamnější sloučenina vyskytující se v konopí. Rozsah léčebných účinků je velmi široký, z nichž jeden z nejdůležitějších je tlumení nevolnosti a zvracení u pacientů trpících onkologickým onemocněním (Sallan et al. 1975). Jelikož zájem o Δ^9 -THC rostl, farmakologické firmy uvedly do prodeje jeho syntetické analogy, mezi které patří například Marinol (legalizován v USA) a Cesamet (legalizován v UK). Marinol je syntetická forma sloučeniny dronabinol (mezinárodní nechráněný název pro Δ^9 -THC) a je prodáván rozpuštěný v sezamovém oleji v želatinových kapslích. Účinnou látkou Cesametu je nabilon (syntetický analog Δ^9 -THC). Tyto syntetické formy Δ^9 -THC pomáhají pacientům po chemoterapii tlumit zvracení, drabinol k tomu podporuje chuť k jídlu při nechutenství a kachexii pacientů s AIDS (Hanuš 2009). V současnosti jediným registrovaným léčivem s obsahem KANABINOIDŮ na území ČR je Sativex. Je registrován pro zlepšení symptomů u dospělých pacientů se středně těžkou až těžkou spasticitou způsobenou roztroušenou sklerózou (Peč 2013).



Obrázek č. 4: Strukturální vzorec Δ^9 -THC (Fišar 2006)

3.4.1.3 Kanabidiol (CBD)

Kanabidiol (CBD) je hlavní nepsychotropní kanabinoid obsažený v rostlině konopí. Vyskytuje se téměř ve všech odrůdách, od nulových hodnot po zhruba 95 % všech přítomných kanabinoidů (Dupal 1994). Poprvé byl izolován v roce 1940 Adamsem a jeho spolupracovníky, nicméně jeho chemickou strukturu stanovili v roce 1963 Mechoulam et Shvo (Izzo et al. 2009). Strukturální vzorec CBD je uveden na obr. č. 5. CBD výrazně potlačuje povzbuzující účinky Δ^9 -THC, posouvá počátek působení konopí a naopak dobu účinku prodlužuje až trojnásobně (Zuardi et al. 2006). Poměr Δ^9 -THC k CBD může být u rostlin pěstovaných v tropických oblastech (10:1 i vyšší) a v severnějších zemích (až 1:2) (Fišar 2006). Genotypy konopí s vysokým obsahem CBD jsou využívány především v léčebné oblasti díky širokému spektru léčebných účinků, které můžeme vidět na obrázku č. 4. Bylo zjištěno, že CBD má spoustu farmakologicky prospěšných účinků. Mezi nejdůležitější účinky CBD patří analgetické, protizánětlivé, sedativní, antiepileptické a antischizofrénní (ElSohly 2007). CBD je silnější neuroprotektivní antioxidant než kyselina askorbová (vitamín C), nebo tokoferoly (vitamín E). Dále může být CBD potencionálně užitečný terapeutický prostředek pro léčbu neurologických poruch, jako je mozková ischemie (Hampson et al. 1998). Příznivě působí i při léčbě Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby (Iuvone et al. 2004). CBD má protizánětlivý a imunosupresivní vliv a mírní artritidu (Malfait et al. 2000).



Obrázek č. 5: Strukturální vzorec CBD (Fišar 2006).

3.4.1.4 Ostatní kanabinoidy

Další významný kanabinoid, je kanabinol (CBN). Byl izolován roku 1896 na univerzitě Cambridge Woodem a jeho kolegy. Jeho správná chemická struktura byla stanovena Adamsem roku 1940. CBN je oxidačním produktem Δ^9 -THC, proto v čerstvých rostlinách konopí je obsaženo pouze stopové množství, ale špatné skladování a sušení může zapříčinit přeměnu Δ^9 -THC na CBN a tím snížení kvality (Izzo et al. 2009). CBN je metabolizováno méně pomalu oproti Δ^9 -THC a CBN vykazuje pouze 10% psychoaktivní účinek oproti Δ^9 -THC (ElSohly 2007).

První z řady nepsychoaktivních kanabinoidů, který byl izolován v rostlině konopí, je kanabichromen (CBC). CBC je společně s Δ^9 -THC, kanabidiolem a kanabigerolem produktem transformace kyseliny kanabigerolové (CBGA) (Russo 2011). Obzvláště bohatý na CBC je čerstvě sklizený materiál. V posledních letech bylo prokázáno, že CBC vykazuje antimikrobiální účinky, dále působí protizánětlivě, analgeticky a antidepresivně. Rozdíl kanabichromenu oproti jiným kanabinoidům je v mechanismu jeho působení. Δ^9 -THC, CBD a ostatní kanabinoidy se váží na kanabinoidní receptory CB₁ a CB₂, zatím co CBC nikoliv. Přesný mechanismus jeho působení v lidském těle doposud nebyl přesně identifikován (Izzo et al. 2012).

Mezi další fytoKANABINOID izolovaný v konopí patří kanabigerol (CBG). Kanabigerol také patří mezi nepsychoaktivní kanabinoidy a najdeme ho převážně v odrůdách technického konopí, jež obsahují velmi malé množství Δ^9 -THC, například Santica. CBG je přímým prekurzorem pro Δ^9 -THC, CBD a CBC (Taura et al. 1996). CBG vzniká důsledkem působením tepla na kyselinu kanabigerolovou (CBGA), která tím ztrácí karboxylovou skupinu a přemění se na CBG (de Meijer et al. 2003). Obvykle se vyskytuje jako minoritní podíl, maximálně 10 % ze zastoupených kanabinoidů. Nicméně Fournier (1987) uvádí, že našli nový chemotyp konopí pěstovaného ve Francii s 94 % zastoupením CBG z celkové kanabinoidní frakce. Později bylo zaznamenáno u jedince ukrajinského genotypu USO-31 zastoupení CBG 85 % (Virovets 1996).

Posledním kanabinoidem popsaným v této kapitole je tetrahydrokanabivarin (Δ^9 -THCV). Jak již název napovídá, jedná se o blízkého příbuzného nejznámějšího kanabinoidu Δ^9 -THC. Přesto, že mají takřka identickou chemickou strukturu, vznikají zcela odlišnými procesy a ve finální podobě má THCV pouze tři karboxylové skupiny oproti pěti u Δ^9 -THC. THCV je psychoaktivní a má podobné účinky jako Δ^9 -THC, nicméně je účinek THCV více energizující a psychedelický. Výzkum se nicméně zaměřuje na odlišné vlastnosti tetrahydrokanabivarinu

a to na schopnost blokovat CB₁ receptory. Výzkum prokázal schopnost aktivovat CB₂ receptory a zároveň blokovat CB₁, což by mohlo pomoci s léčbou některých poruch a to zejména léčbou obezity (Bolognini et al. 2010).

3.4.2 Terpeny

Vyjma kanabinoidů mají v rostlinách konopí farmakologické účinky také terpeny, které jsou definovány jako nenasycené uhlovodíky převážně rostlinného původu a jejich molekuly se skládají ze dvou nebo více izoprenových jednotek. Terpeny jsou těkavé a silně aromatické látky a tvoří základní součást rostlinných silic a pryskyřic, přispívají chuti, vůni a barvě rostlin a slouží k ochraně rostlin před bakteriemi, plísněmi a hmyzem (Grotenhermen et Russo 2002). V silicích rostlin konopí bylo identifikováno více než 200 různých terpenů, které patří zejména do monoterpenů a seskviterpenů. Terpeny jsou stejně jako kanabinoidy produkovány zejména ve žláznatých trichomech samičích květenství. Pokud u těchto látek dojde chemickým změnám (denaturaci) způsobených oxidací např. při sušení nebo jsou chemicky upraveny do jiného stavu nazývají se terpenoidy (Fischedick et al. 2010). Obsah terpenů v rostlině se mění v závislosti na růstové fázi rostlin (Potter 2009).

Mycren, konkrétně β -mycren patří mezi monoterpeny a je jedním z nejčastěji se vyskytujících terpenů v rostlinách konopí. Aroma je zemité s vůní hřebíčku. Obsah mycrenu v konopí má za následek velmi hluboký relaxační a sedativní účinek, který je obecně připisován odrůdám indického konopí. Mycren má silné analgetické, protizánětlivé a antimutagenní vlastnosti. Dokáže blokovat aktivitu některých karcinogenů jako např. aflatoxinu B. Mycren také ovlivňuje propustnost buněčných membrán, tím se urychluje průnik látek do mozku a krevního oběhu a díky tomu se účinky kanabinoidů dostávají rychleji (Rosenthal 2011).

Mezi další významný terpen patří limonen. Má výrazné citronové aroma po pomerančích, citrusech a limetkách. Odrůdy konopí s touto specifickou vůní jsou obecně spojovány s pozvednutím nálady a podporou myšlení. Velmi snadno se vstřebává do těla inhalací, rychle prochází přes membrány a dostává do krevního oběhu. Dále pomáhá průchodu ostatních terpenů. Limonen potlačuje růst mnoha druhů plísní a bakterií. Působí jako antidepresivum a má antibakteriální, protirakovinný a antikarcinogenní účinky (Brown 2015).

Významným aromatickým terpenem je také seskviterpen karyofylen. Karyofylen je jediným terpenem, který přímo komunikuje s endokanabinoidním systémem a konkrétně receptorem CB₂. Z tohoto důvodu je slibným kandidátem při léčbě některých druhů rakoviny (Rosenthal

2011). Karyofylen v kombinaci s CBD se využívá při léčbě chronické bolesti. Dále je karyofylen používán jako signální molekula při trénování psů pro vyhledávání drog (Turner et al. 1980).

3.4.2.1. Synergie s kanabinoidy

Terpeny a kanabinoidy spolu vytvářejí tzv. synergický účinek, tzv. “The Entourage effect”, což znamená, že jejich spolupůsobení má výraznější léčebné účinky než při léčbě jednotlivými látkami (Ben-Shabat et al. 1998).

Mezi největší výhody této synergie kanabinoidů a terpenů bezpochyby patří schopnost těchto látek působit na různých místech v těle, zlepšení absorpce aktivních látek, schopnost snáze překonávat obranné mechanismy bakterií nebo snižovat nežádoucí vedlejší účinky (de Meijer et al. 2003). Terpeny v lidském těle působí jiným způsobem než kanabinoidy, a tím mohou bojovat s různými problémy i skrze jiné části těla a tím násobit své účinky. Kanabinoidy jsou z chemického hlediska polární sloučeniny, které jsou pokožkou těžko prostupné. Pokud jsou ale látky z konopí pohromadě, přítomnost terpenů jako je např. karyofylen mohou výrazně posílit absorpci látek, a tak zvýšit terapeutické výhody konopí. V případě kosmetiky se např. terpeny linalool, limonen v kombinaci s kanabinoidem CBD ukázaly být efektivní zejména při léčbě akné (Potter 2009). Dále kombinace terpenů pinenu, myrcenu a karyofylenu může výrazně posílit účinky kanabinoidů při léčbě úzkostí. Terpeny linalool, limonen a kanabinoid CBG zase ukazují slibné výsledky při léčbě stafylokokové infekce (MRSA)(Meticilin-rezistentní zlatý stafylokok). Dalším kladem je zmiňované překonávání obranných mechanismů bakterií. Bakterie si časem vytváří obranné mechanismy proti běžným lékům, jako jsou např. antibiotika. Kanabinoidy a další látky obsažené v konopí jsou schopné napadat obranné mechanismy bakterií z více “směrů”, a tím může být dosaženo požadovaných účinků daleko snadněji (Russo 2011).

3.4.3 Ostatní účinné látky v konopí

Dalšími látkami obsažených v rostlinách konopí jsou flavonoidy, náležející mezi rostlinné sekundární metabolity. Je to jedna z největších skupin organických polyfenolů, které byly doposud objeveny, čítající více než 6000 různých látek. V konopí jich bylo identifikováno téměř dvě desítky a např. cannaflavin B byl doposud identifikován pouze u konopí. Dále lze běžně v konopí objevit další látky, jako jsou např.: apigenin, quercetin, cannaflavin A, β -

sitosterol, vitexin, isovitexin, kaempferol, luteolin nebo třeba orientin (Flores-Sanchez et Verpoorte 2008).

Vyjma kanabinoidů Δ^9 -THC, CBD a dalších, terpenů, jako jsou mycren a limonen, mají řadu účinků v konopí na svědomí právě flavonoidy. Ty se spolu běžně slučují a kombinují se navzájem s ostatními fytonutrienty obsaženými v konopí a hrají přitom vysoce bioaktivní roli. Flavonoidy jsou při růstu rostlinou využívány jako filtr UV- záření a jako ochrana před škůdci a houbami. Dále jsou flavonoidy významnými činiteli ve spoluvytváření barvy, chuti, vůně a doprovodných účinků konopí (Vanhoenacker et al. 2002).

Flavonoidy jsou známé svými protizánětlivými a antioxidačními schopnostmi a jako zdroj výrazného barviva pro mnoho plodů a rostlin, jako například modrá barva borůvek nebo červená barva malin. Některé flavonoidy extrahované z rostlin konopí již byly testovány na přítomnost farmakologických účinků, nicméně i když jsou výsledky studií slibné bude zapotřebí dalšího zkoumání, abychom pochopili jak se flavonoidy v našem těle chovají a jakou hrají celkovou roli v terapeutických účincích marihuany (Russo 2011).

Dalším produktem rostlin konopí jsou alkaloidy, které taktéž jako terpeny patří do skupin látek sekundárního metabolismu. Alkaloidy jsou strukturně rozmanité dusíkaté organické látky zásaditého charakteru. Alkaloidy mají farmakologické účinky, většina působí na centrální nervovou soustavu živočichů. Některé jsou prudce jedovaté, jiné mohou mít v malých dávkách léčivé účinky, pro které jsou využívány v lékařství. Pro své narkotické účinky jsou často zneužívány narkomany, kteří se mohou snadno otrávit, když neodhadnou snesitelné množství látky. Konopí obsahuje např. alkaloidy trigonellin a nikotin (Verpoorte et al. 1989). Podle různých účinků na organismus můžeme mezi alkaloidy rozeznat euforika (způsobují blaženost a euforii), anestetika (lokální znecitlivění), analgetika (utišující účinky), hypnotika (uspávání), antipyretika (snižují zvýšenou teplotu), analeptika (stimulace nervové soustavy), diuretika (močopudné účinky) a spasmolytika (tlumí stahy hladkého svalstva) (Vanhoenacker et al. 2002).

3.5 Endokanabinoidní systém

Díky izolaci čistého rostlinného Δ^9 -THC a stanovení jeho chemického vzorce v 60. letech minulého století a následného zkoumání jeho účinků, byly v organismu obratlovců včetně člověka zmapovány specifické kanabinoidní receptory (Šulcová 2012). V roce 1988 byl objeven endokanabinoidní systém (ES) s receptorem označeným CB₁. O pět let později, roku

1993 byl objeven a popsán druhý typ receptoru s označením CB₂. Dále je popisována existence receptoru CB₃ s označením GRP55, u kterého je také předpokládán vztah k řadě fyziologických procesů (Devane 1988). Endokanabinoidní systém (ES) je endogenní signální systém, který se stává z receptorů CB₁ a CB₂, jejich endogenních ligandů (endokanabinoidů) a enzymů pro jejich biosyntézu a degradaci. Součástí endokanabinoidního systému se navzájem ovlivňují a příznivě přispívají k vitalitě organismu. Receptory CB₁ se nacházejí v srdci a cévním systému, v mozku a míše, v játrech a v kosterních svalech. Receptory CB₂ jsou exprimovány v imunitním systému a posléze také v centrální nervové soustavě. Receptory CB₁ a CB₂ působí přes G-proteiny negativně na adenylátcyklázu a pozitivně na mitogenem aktivovanou proteinkinázu (Kvasnička 2008). Bylo zjištěno, že počet CB₁ receptorů je v předním mozku o mnoho vyšší, než v zadní části mozku a míše (Tsou et al 1998) a také, že CB₁ receptory jsou odpovědné za psychotropní účinky kanabinoidů, jelikož se na ně váže Δ^9 -THC. Fytokanabinoidy umožnily průzkum kanabinoidních CB receptorů a tím odhalily tělu vlastní látky, které působí jako antagonisté na CB receptorech (Hanus 2012). Endogenní kanabinoidy jsou lipofilní signální molekuly, které splňují podmínky pro zařazení mezi neurotransmitery. Nejrozšířenějším endokanabinoidem je 2-arachidonoyl-glycerol (2-AG), nejprozkoumanějším endokanabinoidem je anandamid (N-arachidonylethanolamid, AEA), ale existují další molekuly, které patří mezi endokanabinoidy. AEA, 2-AG jsou odvozeny od kyseliny arachidonové, což je významná nenasycená mastná kyselina vázaná v membránových fosfolipidech (Ben-Shabat et al 1998).

3.6 Pěstování rostlin v řízených podmínkách (Indoor)

Pěstování rostlin v indoor pěstební místnosti znamená, že konopí je v uzavřeném prostoru, kde lze kontrolovat všechny klíčové faktory, které vedou ke kvalitní sklizni. Rozumí se tím vysoký výnos a kvalitní poměr biologicky aktivních látek. Mezi nejvýznamnější faktory ovlivňující růst patří osvětlení, vlhkost vzduchu a jeho teplota, dodané živiny, voda a další. Z důvodu, že je konopí fotoperiodické, tak jej lze pěstovat celoročně. Průměrná doba potřebná pro dokončení jednoho životního cyklu rostliny je cca 90 dní, ale je to velmi závislé na druhu konopí. Jak již bylo popsáno v kapitole 3.2 Botanika a taxonomie konopí (*Cannabis spp.*) konopí seté potřebuje více času k dokončení cyklu oproti konopí indickému (Cervantes 2006).

Konopí lze rozmnožovat vegetativně takzvaně „řízkováním“ a nebo generativně. Při použití semen se výrazně prodlužuje vegetační fáze růstu. Rostliny jsou v počáteční fázi růstu značně

náchylné na nemoci, škůdce a chyby pěstitele. Tyto faktory mohou mít za následek buď silný stres pro rostliny, nebo v nejhorším případě uvadnutí. Při použití řízků se doba potřebná pro jejich růst zkrátí o 2-3 týdny. Řízky jsou zakořeněné odnože z mateřské rostliny (Clark 1993). Samotné mateřské rostliny jsou pěstovány odděleně a to z toho důvodu, že jsou neustále udržované při světelné periodě 18 hodin světlo a 6 hodin tma, tudíž ve vegetační fázi. Matky jsou selektovány z většího množství rostlinek, které předčily ostatní rostliny v určitých parametrech. Sledovanými parametry mohou být výnos, obsah účinných látek, nebo rychlost květu (Adams 2012). Vybrané zakořeněné řízky by měli být zdravé, silné a měli by mít vyrovnaný růst. Vegetační fáze bývá zpravidla několik dní až týdnů, v závislosti na genetice a technologii kultivace daných rostlin. Po dosažení optimální velikosti jsou rostliny přepnuty do květové fáze růstu, doba osvětlení se zkrátí na dvanáct hodin denně a použijeme zdroj světla s růstovým spektrem (Dupal 2010).

Konopí se přirozeně větví. Konopí seté méně a konopí indické více. Při indoor pěstování se velmi často odstraňují nejspodnější patra rostlin a to z toho důvodu, že se k těmto výhonkům nedostane dostatek světla a květy jsou posléze řídké, malé a zbytečně čerpají rostlinám energii (Taxier 2015). Pro rychlé zaplnění prostor pěstební místnosti, lze využít techniku tzv. zastřížení. Nejvyšší vrcholky rostlin se odstraní a roli vrchních větví přeberou dva nejbližší spodní výhonky (Adams 2012).

Jednou ze základních podmínek indoor kultivace konopí, které je třeba zajistit aby rostliny prosperovaly, je světlo. Světlo je životně důležité pro proces fotosyntézy. Při tomto složitém biochemickém ději vznikají cukry, z chemicky jednodušších látek (H_2O , CO_2) za přispění energie světla. Pro získání optimální sklizně je nezbytné specifikovat několik světelných parametrů, zejména intenzitu světla, spektrum světla, a fotoperiodu (Adams 2012). Při vnitřní kultivaci je na výběr z několika druhů osvětlení. Především rozlišujeme mezi typem osvětlení vhodného pro růst, pro květ a kombinací růstového a květového spektra, které se nazývá duální (Dupal 2010). Spektrum světla je stejně významné, jako jeho intenzita. V růstové fázi je ideální modré světlo (420 – 460 nm), protože v rostlině převažuje chlorofyl b. Modré spektrum významně stimuluje produkci růstových hormonů a podporuje fototropismus. Ve fázi květu je naopak nejvhodnější červené spektrum (600 – 680 nm), které zachycuje chlorofyl a. Pomocným ukazatelem při výběru umělého osvětlení je teplota chromatičnosti, neboli barevná teplota, která se udává v Kelvinech (K). Čím je teplota chromatičnosti nižší, tím lépe se hodí zdroj světla na květ. A čím je vyšší, tím více obsahuje světelný zdroj modrého světelného spektra, které se hodí především na růst (Berrea 2014). Posledním parametrem je fotoperioda, neboli délka svitu a to z toho důvodu, že konopí začíná kvést v závislosti na délce dne. Při

růstové fázi je fotoperioda 18 hodin světlo a 6 hodin tma. Pokud zkrátíme fotoperiodu na 12 hodin světlo a 12 hodin tma, konopí začne kvést (Adams 2012).

Další podmínka pro dobrý růst rostlin, je teplota. Konopí prosperuje při teplotách 20 – 25°C. Při teplotách pod 15 °C se metabolismus téměř zastaví. Pokud naopak teplota stoupne nad 25 °C, metabolismus rostliny zrychluje. Také se zvyšuje spotřeba vody, živin a vzduchu (Adams 2012). Při pěstování v uzavřených prostorách je častěji problém s vyššími teplotami, než s nižšími. Důvodem je osvětlení, které ohřívá vzduch v místnosti. Pro udržení teploty v optimálním rozmezí se používají přítahové a odtahové ventilátory vzduchu (Dupal 2010).

Dalším, velmi důležitým faktorem, který ovlivňuje rostliny, je relativní vlhkost vzduchu. Ve vegetativní fázi je optimální vlhkost 60 – 80 %. Při nižších hodnotách vlhkosti dochází k vyššímu odpařování vody z rostlin. Ve fázi květu je zapotřebí udržet relativní vlhkost pod 60 %. Při vyšší vlhkosti v době květu hrozí napadení rostlin plísněmi, které mohou znehodnotit úrodu (Cervantes 2006).

3.6.1 Hydroponické pěstební systémy

Historie hydroponických systému sahá daleko do minulosti, až do 17. století, kdy anglický botanik John Woodward vydal článek s experimentem, kde pěstoval rostliny ve vodní kultuře. Snažil se pěstovat mátu a ostatní rostliny za použití pramenité vody, dešťové vody, vody z řeky Temže a dokázal, že rostliny v čisté vodě nerostou tak dobře jako ve vodě s rozpuštěnými látky. První rostliny zcela bez půdy byly vypěstované v roce 1860. To společně provedli německý vědec Julius von Sachs a Wilhelm Knop, kteří namíchali jednoduchý roztok z tehdy dostupných solí. V roce 1929 William Frederick Gericke hlásal myšlenku využití řešení pěstování rostlin v živném roztoku ke komerčnímu využití. Později v letech 1937 poprvé použil slovo hydroponie. Od 2. světové války došlo v oblasti hydroponického pěstování k mnohým objevům a inovacím. V šedesátých letech byl objeven potenciál rockwoolu, na trhu se objevily nové formy hnojiv a začaly se masivně využívat plasty. Díky svým nesporným výhodám a efektivitě je v dnešní době hydroponická kultivace celosvětově rozšířena (Hershey 1994).

Před samotným popisem hydroponických systémů je třeba se zmínit o inertních pěstebních médiích. Stejně jako půda slouží k opoře rostliny a tvoří zásobárnu kyslíku pro kořenový

system. Tato média lze rozdělit na ta, která zadržují vodu a zalévají se v cyklech. Druhou skupinou jsou média, která živný roztok zadržují minimálně, nebo vůbec (Adams 2012).

Rockwool je nesprávné, avšak zažitě pojmenování pro kamennou vlnu, která se využívá ve stavebnictví jako izolant. V roce 1969 se začal poprvé používat i při kultivaci rostlin. Jeho výroba se provádí ve vysokých pecích z čediče, koksu a dalších materiálů za teploty přesahující 1600 °C, dále jsou vyčesávána vlákna z taveniny, různými způsoby skládána, fixována pryskyřicemi a řezána. Hlavní výhodou kamenné vlny je nízká pořizovací cena. Od 80. let se jedná o nejpoužívanější pěstební hydroponické médium. Hlavní nevýhody rockwoolu je usazování solí na vrchní části kostek. Lze se jich zbavit vymýváním větším množstvím roztoku. Tím ale vzniká další problém, kterým je nadměrná vlhkost zabraňující přístupu kyslíku ke kořenům (Taxier 2015).

Dalším typem média zajišťující zadržování vody je kokosové vlákno. Tato vlákna se vyrábí ze skořápek zralých kokosových ořechů. Jsou složena především z ligninu, taninu, celulózy a pektinu. Vzhledem k vysokému obsahu ligninu podléhají kokosová vlákna degradaci velmi pomalu. Navíc jsou přírodního původu a lze je velmi dobře kompostovat (Cervantes 2006).

Dalším inertním pěstebním médiem zadržujícím vodu je perlit, který vzniká vulkanickou činností. Uplatnění často nachází při zakořeňování řízků a při klíčení semen. Perlit je často přimícháván jako příměs do půdních substrátů (Adams 2012).

Nejrozšířenějším pěstebním médiem pro hydroponickou kultivaci je keramzit. Je vyráběn v rotačních pecích z různých druhů jílu. Výroba zahrnuje několik kroků, při kterých je dosaženo teploty až 1200 °C. Vzniklý produkt o hustotě 0,55 – 1,1 g/cm³ je světlé hnědé, až černé barvy. Je tvrdý, vysoce porézni a jen velmi slabě zadržuje vodu (Cervantes 2006). Do hydroponického systému se nejvíce hodí neupravené kamínky různých tvarů a velikostí, čímž je zajištěn prostor pro kontakt kořenů s kyslíkem. Keramzit je vysoce stabilní médium s pH kolem 7 a téměř žádnou pufrací schopností. Velkou výhodou je možnost opakovaného použití. Keramzit stačí očistit od starého kořenového balu a propláchnout čistou, neutrální vodou. Do keramzitu lze přidat 10 % kokosového vlákna, tím zvýšit organickou hmotu v substrátu a poskytnout prostředí pro mikroorganismy, které následně zajistí zlepšený příjem živin kořenovým systémem (Taxier 2015).

Při hydroponickém pěstování čerpají rostlinky živiny přímo z vody. Voda, která je použita pro hydroponické pěstování, musí mít určité parametry. Základním parametrem je jakost vody. Velmi vhodné je použití běžné, kohoutkové vody, která je přísně kontrolována a tedy zdravotně nezávadná. Další parametr je tvrdost vody. Ta se odvíjí od množství rozpuštěných

iontů Ca^{2+} a Mg^{2+} . Pokud je těchto iontů ve vodě vyšší množství, voda je tvrdá. Při extrémní tvrdosti vody se lze setkat s přehnojením vápníkem, které se řeší za pomoci filtrů a speciálních hnojiv (Taxier 2015).

Kyselost, neboli pH udává kyselost roztoku, tedy poměr mezi H^+ a OH^- ionty. Hodnoty pH se měří pomocí lakmusových papírků, nebo přesněji měřicí digitální pH metry (Adams 2012). Ideální pH se pohybuje v rozmezí od 5,2 do 6,2. Stabilní hodnoty pH jsou důležité k zajištění optimální dostupnosti živin pro rostliny. Pokud je hodnota nižší, či vyšší, rostlina není schopná přijmout některé prvky v potřebném množství a hrozí tak podvýživa. Hodnotu by měl pěstitel průběžně měřit, jelikož hodnota pH kolísá. K tomuto kolísání dochází, protože odpadní produkty z kořenů přímo ovlivňují hodnotu pH živného roztoku. Tento vliv závisí mj. na fázi vývoje rostliny, jejím stavu, složení živného roztoku a přívodu vody. Ve fázi růstu rostliny obvykle způsobují, že pH živného roztoku stoupá. Ve fázi květu se děje opak: kořeny produkují kyselé sekrety, které způsobují, že hodnota pH živného roztoku klesá. Kvalitní hnojiva by měla změnit hodnotu pH jen minimálně. Při nevhodné hodnotě pH je nutné tuto hodnotu upravit na optimální úroveň. Snížení, nebo zvýšení hodnoty pH lze provést použitím kyselin, jako je kyselina dusičná (HNO_3), kyselina fosforečná (H_3PO_4), nebo zásaditým hydroxidem draselným (KOH) (Adams 2012).

Dalším ukazatelem je elektrická vodivost (Electric Conductivity), neboli EC. Jednotky jsou udávány v mS/cm (Siemens). Naměřené hodnoty ukazují, jak je roztok vodivý. Přesněji, kolik je v roztoku obsaženo minerálů. Pokud dojde k poklesu nebo zvýšení EC, je třeba roztok buď naředit, nebo naopak živiny dodat. Ke změření se využívá digitální EC metr. Pro malé sazeničky je optimální EC kolem 1 mS/cm. Pro větší rostliny ve vegetativní fázi, či v květu lze zvýšit EC až na hodnotu kolem 2,5 mS/cm. Velmi však záleží na genotypu rostliny. Konopí seté snáší obvykle vyšší hladiny EC, než konopí indické (Admas 2012). Hnojivo musí být ve vodě zcela rozpustné, mít vyvážený poměr živin a musí dodat rostlinám veškeré mikro a makro prvky. Pokud by výživa nebyla komplexní, rostliny budou strádat, což se podepíše na jejich vitalitě a výsledné produkci (Vanhove 2011).

Metod hydroponické kultivace je hned několik. S některými je možné se setkat často, s některými systémy se při indoor pěstování konopí téměř nesetkáme (Adams 2012). První používaným systémem byl tzv. pasivní systém. Ten nepotřebuje žádné čerpadlo k přečerpávání vody, ale pouze bavlněné, či nylonové knoty, které jsou ponořené v živném roztoku. Ten je pomocí osmózy nasáván a rozváděn ke kořenům rostlin osazených v inertním médiu (Taxier 2015). Nicméně pro kultivaci konopí je tento systém nevhodný. Je to z toho

důvodu, že je konopí rychle rostoucí rostlina s velkými nároky kořenů na kyslík, který tento systém nenabízí, jelikož je roztok statický a není okysličován (Adams 2012). Aktivní systémy se dělí na několik podsystémů. Společným znakem je aktivní rozvod živného roztoku pomocí čerpadla (Taxier 2015).

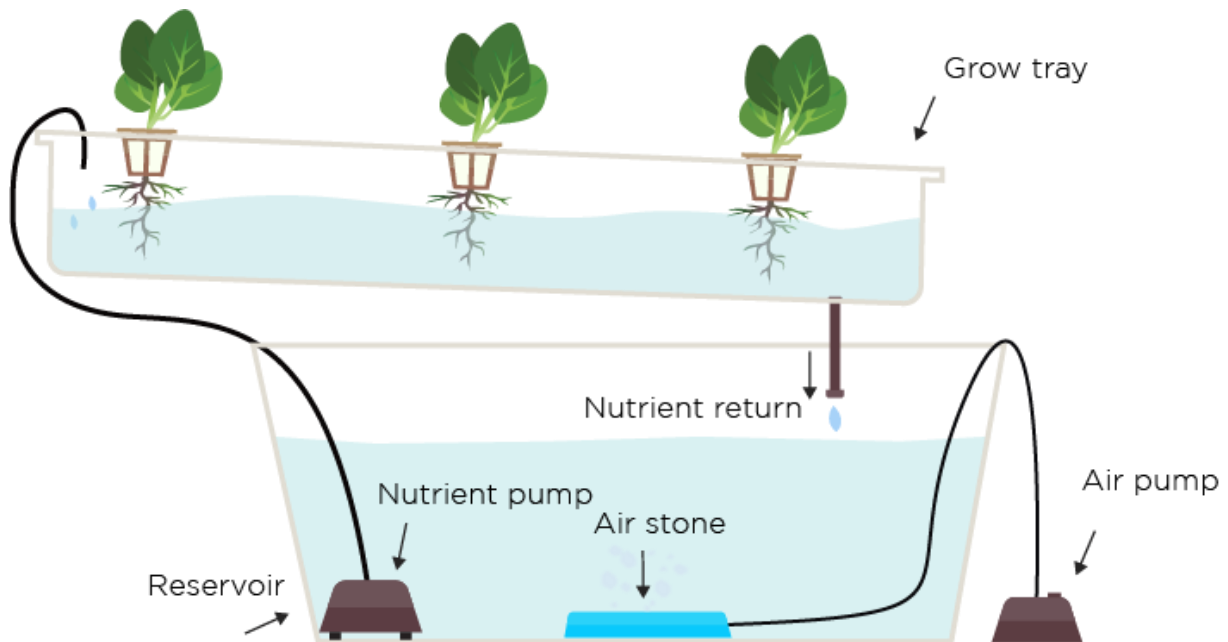
3.6.1.1 Nutrient Film Technique

Jedním z nejpoužívanějších aktivních systému hydroponické kultivace rostlin je Nutrient Film Technique, neboli NFT. Největším protagonistou tohoto systému byl anglický vědec Allan Cooper, který vydal knihu "The ABC of NFT". NFT bylo výrazně využíváno v 90. letech minulého století ve Velké Británii ke komerčnímu pěstování např. hlávkového salátu. Kritici tohoto systému byli Holanďané, kteří kritizovali zejména možné šíření chorob tímto recirkulačním systémem (Jensen 1997).

NFT je technika hydroponické kultivace při které se malý, mělký proud vody bohatý na živiny recirkuluje přes kořeny. Rostliny v tomto systému tudíž čerpají živiny z tohoto roztoku. Rostliny jsou nejčastěji zasazeny v rockwoolových kostkách, které jsou postaveny na dno plastové vany, na kterém je umístěna netkaná textilie. Dno nádoby obsahuje drážky, kudy proudí živný roztok za pomoci gravitace. Výška nádoby může být až několik desítek centimetrů. Celá pěstební vana vyžaduje mírný náklon, který zajistí rovnoměrný a pomalý proud roztoku. Ten je do systému vháněn čerpadlem z druhé nádoby, která se z úsporného důvodu dává pod nádobu s rostlinami (Chotai et Young 2014). Kořeny si berou z pomalu tekoucího živného roztoku tolik živin, kolik zrovna potřebují. Zálivka nikdy nestojí, ale je pomalu recirkulována. Obnažené, ale před světlem skryté, kořeny jsou navíc optimálně okysličené. Hydroponické pěstování bez substrátu a hlíny je čistější a méně náchylné pro výskyt chorob a škůdců. Pouze dobře zakořeněné rostliny jsou vhodné pro vložení do hydroponického systému NFT (Hayden 2006).

Pro zabránění růstu nežádoucích řas je vhodné zakrýt rockwoolové kostky např. netkanou textilií. Další skvělá výhoda tohoto systému je výborný přísun kyslíku ke kořenům. Tenká vrstva živného roztoku umožňuje aby rostliny byly dostatečně vyživovány, ale nebyly zcela namočené. Horní část kořenů zůstává suchá a má přístup k dostatečnému množství kyslíku. Další nespornou výhodou je nízká spotřeba vody, protože roztok cirkuluje v uzavřené soustavě. Rovněž pořizovací cena těchto systémů je v porovnání například s aeroponií velmi příznivá (Cervantes 2006).

Hlavní nevýhodou systému NFT je nedostatečná fyzická podpora vzrostlých rostlin. Kořeny jsou volně rozprostřeny v nádobě a samotná rockwoolová kostka, či košíček s keramzitem rostlině oporu nezajistí. Vhodným řešením je natažení horizontální sítě ve více úrovních, nebo uchycení rostlin za pomoci provázků. Tlak, který vyvíjí vzrostlé, robustní rostliny ve fázi kvetení na rockwoolovou kostičku, nebo košíček může být tak velký, že může být kořenový systém rostlin stlačen na dno nádoby, což má negativní účinky a dokonce může dojít až k zastavení průtoku živin. Další problém může způsobit nedostatečná zálivka. Tento nedostatek může být způsoben zacpanými kanálky kořeny a nečistotami nebo v horším případě, nefunkčností čerpadla. Pokud dojde k výpadku elektrického proudu, kořeny rostlin začnou usychat během několika málo hodin (Taxier 2015).



Obrázek č. 6: Princip systému NFT

Zdroj: <https://www.greenandvibrant.com/sites/default/files/inline-images/NFT-Nutrient-Film-Technique.png>



Obrázek č. 7: Systému NFT

3.6.1.2 Aeroponie

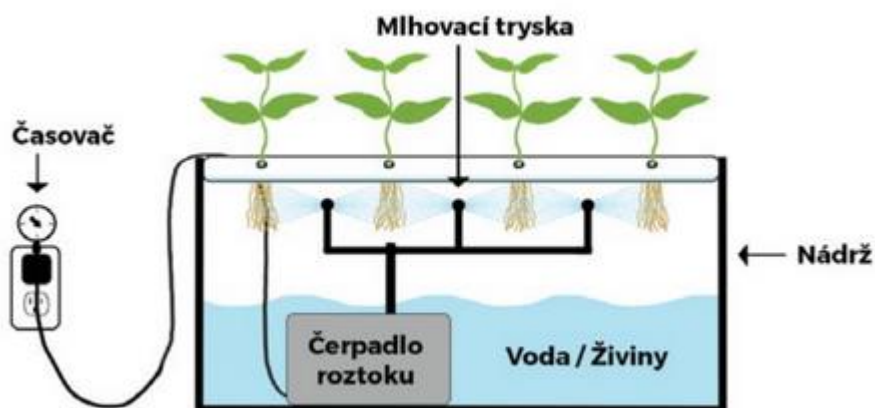
Aeroponická metoda kultivace rostlin je relativně nová metoda. Doba jejího vzniku je kolem roku 1980. Slovo "aeroponie" je odvozeno z řeckého vzduchu (αἴρ, "vzduch") a ponos ("pain", "práce"). Aeroponie se liší od aero-hydroponických systémů formou aplikace závlivky. Ta je přeměněna na mlhu ultrazvukovou membránou (AlShrouf 2017).

Prvním a nejdůležitějším předpokladem pro aeroponické pěstování je stabilita genofondu – ten je vyšlechtěn díky selekci rostlin na základě podobných aspektů v jejich růstu, květu, době kořenění apod. Jen stabilita, stejnorodost a rostliny se stejným genetickým základem mohou dobře interpretovat výsledky, s nimiž se dá při aeroponickém pěstování počítat (Taxier 2015).

Aeroponie je metoda pěstování, kde jsou kořeny rostliny zasazeny do hydroponických košíčků a zavěšeny ve vzduchu, kde jsou neustále ostříkovány vodou nasycenou hnojivou (minerálními nebo organo-minerálními). Kromě propagační kostky v případě, kdy pěstujete od semínka, se nepoužívá žádné pěstební médium. V případě pěstování z klonů mohou být také umístěny v neoprénových kroužcích, bez potřeby média, a kořenit přímo do vody (Heyden 2006). Aeroponii lze využít pro pěstování rostlin po dobu celého cyklu vývoje a vynikajících výsledků dosáhnete i při množení klonů. Kořeny rostliny se vyvíjejí v komoře, kde dostávají živiny díky rozprašovači živného roztoku, do kterého se roztok dostává díky čerpadlu. Na stejném principu funguje zařízení na zvýšení vlhkosti v pěstební místnosti (Taxier 2015). Díky tomu, že při kultivaci není použito žádné inertní médium, je prostředí neustále sterilní, což znamená snížení nebezpečí výskytu půdních chorob a škůdců (AlShrouf 2017).

Rostliny přijímají živiny a vodu ze vzduchu, proto je okysličení maximální. To paradoxně není výhoda při kultivaci konopí. Kořenový bal dosahuje enormních rozměrů na úkor vrchních částí rostliny. Proto se tyto systémy využívají k produkci zejména rostlin pěstovaných pro podzemní části (Rykaczewska 2016). Dalším problémem je zanášení membrán živinami z roztoku. Ty je třeba často čistit a jejich životnost je výrazně snížena (Taxier 2015). Živná mlha musí být aplikována pravidelně, aby kořeny nezačaly usychat. Časové úseky aplikace jsou krátké, zpravidla několik sekund a intervaly mezi jednotlivými cykly zpravidla 1–3 minuty (Jensen 1997). Pokud přestane být z jakéhokoliv důvodu tvořena mlha, rostliny velmi rychle vadnou. Proto je potřeba neustále monitorovat funkčnost celého pěstebního aparátu. Aeroponická zařízení jsou velmi nákladná a jejich provoz a údržba složitá. Při indoor kultivaci konopí nachází tato metoda uplatnění zejména při kořenění řízků (Taxier 2015).

Základním mechanismem pro fungování dopravy výživy rostlin v aeroponickém systému je vodní čerpadlo o určitém výkonu – ten můžeme vypočítat ze dvou hlavních veličin a to je průtok a výtlak. Výtlak vody je ta nejdůležitější informace, která by měla pěstitele u čerpadla zajímat. Udává se v metrech a určuje, kolik vody je čerpadlo schopno vyčerpat do výšky (vertikálně z vašeho rezervoáru, nasyceného živným roztokem, k rostlinám). Průtok vody určuje množství vody, které proteče čerpadlem (AlShrouf 2017). Na základě těchto dvou veličin rozdělujeme aeroponické systémy na vysokotlaké, které ke svému fungování používají silné motory, samostatně napájené, nejčastěji nazývané Vortex, a klasické systémy, které mají po obvodu rozvodu vody mechanicky roztáčecí trysky pro přívod vody ke kořenům díky mechanickému tlaku (Taxier 2015).



Obrázek č. 8: Princip systému Aeroponie

Zdroj: <https://www.casopisroots.cz/wp-content/uploads/2018/06/Bez-n%C3%A1zvu.png>

3.6.1.3 Atami Wilma

Atami Wilma je aktivní hydroponický systém, který umožňuje pěstovat jednotlivé rostliny v květináčích a zároveň čerpat výhody hydroponické kultivace. Tak budou mít rostliny dostatek místa na zdravý vývoj. Atami Wilma využívá kapénkovou závlahu (Texier 2015).

Metoda kapkové závlahy byla objevena koncem 2. světové války. První komerční využití bylo provedeno v druhé polovině 50. let v Anglii při kultivaci rajčat. Velký rozmach této technologie přišel s masovou výrobou plastů a rockwoolu (Dasberg 1999).

Kapková závlaha, v anglické literatuře nazývaná Drip irrigation, je metoda, která rostlinám dodává živný roztok po kapkách. Tento systém nemusí být pouze hydroponický a lze se s ním setkat i při kultivaci v půdě a půdních substrátech, kde je zajištěna automatická závlaha. Nevýhodou kapkové závlahy u půdních substrátů je, že je těžké nastavit požadované množství zálivky (Camp 1998).

Do systému Atami Wilma lze použít všechna možná inertní média (keramzit, kokos, půda nebo minerální vata), ale nejpoužívanější jsou keramzit a rockwool, do kterých je rostlina zasazena. Květináče se umístí na misku nad nádrži s živinovým roztokem. Živný roztok je namíchán v nádrži, odkud je čerpadlem čerpán do hlavní rozvodné hadice. Z této hlavní hadice jsou vyvedeny malé kapiláry o průměru do několika milimetrů zakončené jehlou, která je napíchnutá do pěstebního média. Živný roztok pomalu kape k rostlinám a tím je zajištěna dodávka vody a živin. Roztok proudí médiem a přes kořínky rostlin, protéká do záchytné nádrže a přivádí kyslík do oblasti kořenů (Taxier 2015).

Tento systém je poměrně efektivní metoda. Správné načasování závlahy je nejdůležitější kritérium. Jako u ostatních hydroponických systémů může dojít k přemíře, nebo naopak nedostatku živného roztoku. Samotné rozvodné potrubí musí být dobře sestavené, jinak vzdálenější rostliny od čerpadla mohou mít problém s nedostatečným množstvím zálivky vlivem nižšího tlaku na konci hadice. Také správná volba čerpadla je úkol, který nelze podcenit. Pokud bude čerpadlo vyvíjet příliš vysoký tlak, rozvodné potrubí může být poškozeno. V opačném případě budou mít rostliny nedostatek zálivky (Adams 2012). Dalším problémem může být menší množství kyslíku v kořenové zóně, zejména při použití rockwoolových rohoží, které nasají příliš mnoho vody a dojde tak k zahnívání kořenových špiček (Taxier 2015). Největší výhodou tohoto systému je jeho pořizovací cena. Nezbytné je pouze čerpadlo a rozvodné potrubí pro závlahu, nádoby na vodu lze užít opakovaně, keramzit a kokosový substrát také.



Obrázek č. 9: Systém Atami Wilma

Zdroj:https://cdn.myshoptet.com/usr/www.hotchilli.cz/user/shop/big/3121_xlw-8-18.jpg?5a5b4e1c



Obrázek č. 10: Atami Wilma

4 Materiál a metodika

Rostliny genotypu McLove byly vypěstovány na univerzitním Pracovišti pro výzkum pěstování léčebného konopí v Meclovské zemědělské a. s. na Domažlicku. Rostliny pocházející z klonů mateřských rostlin McLove byly pěstovány 4 po sobě jdoucí pěstební cykly. V přísně kontrolovaných indoor podmínkách byly porovnávány tři různé hydroponické systémy (Atami Wilma, Nutrient Film Technique, Aeroponie). Rostlinné vzorky byly usušeny při teplotě 25 °C a následně homogenizovány. Obsah hlavních kanabinoidů byl kvantifikován pomocí plynové chromatografie s plamenným ionizačním detektorem, dle standardizované metodiky OSN. Statistické vyhodnocení naměřených dat bylo provedeno programem Statistica 12 (USA) a pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) a Turkey testu na hladině významnosti $\alpha=0,05$.

4.1 Pěstování a výživa rostlin

Pěstovaným kultivarem byla zmíněná odrůda McLove. V kultivační místnosti Meclovské zemědělské a. s. byly rostliny konopí pěstovány ve 3 různých hydroponických systémech, kterými jsou Atami Wilma, Nutrient Film Technique a Aeroponie. Rostliny byly pravidelně hnojeny hnojivou značky Advanced hydroponics of Holland. Jedná se o univerzální hnojivo, která se používají při indoor kultivaci konopí. Hnojivo se skládá ze tří složek, kterými jsou GROW, BLOOM a MICRO. Poměr NPK tohoto hnojiva je 2,5-1,2-6 (%) pH vody bylo upravováno na hodnoty 5,8-6,2 a to za pomoci kyseliny dusičné. Teplota vzduchu v místnosti byla udržována v rozmezí 25-30 °C a vlhkost vzduchu byla udržována v rozmezí 40-70 % v závislosti na vegetační fázi rostlin. (<http://www.advancedhydroponics.nl/>)

4.2 Rostlinný materiál

Rostliny konopí byly pěstovány ve čtyřech pěstebních cyklech.

- 1. cyklus – sklizeň: 4.11.2016
- 2. cyklus – sklizeň: 6.6.2017, po druhém cyklu byla zrušena technologie aeroponie, která se neosvědčila a byla problematická
- 3. cyklus – sklizeň: 4.1.2018
- 4. cyklus – sklizeň: 10.7.2018, v tomto cyklu nebyla spuštěna technologie NFT z technických důvodů
- 5. cyklus – sklizeň: 19.11.2018, z tohoto cyklu je pro tuto práci použita pouze technologie NFT, která přebírá roli 4. cyklu

Sklizené samičí květenství konopí, které bylo zbaveno listů se sušilo 14 dní při teplotě 25°C. Poté byl materiál uzavřen do vzduchotěsných sáčků a uschován ke skladování. Sklizené a usušené květenství bylo homogenizováno pomocí elektrického mlýnku (Valentino – KONCEPT KM-5001, CZ). Z takto připravené směsi bylo odváženo 100 mg vzorku pro následnou analýzu a zbytek byl uzavřen do vzduchotěsných sáčků a uschován pro další analýzu.

4.3 Kvantifikace hlavních kanabinoidů

Nejprve bylo naváženo 100 mg homogenizované rostlinné směsi do 20 ml šroubovací vialky na analytické váze a poté bylo napipetováno 10 ml roztoku interního standardu ($c_{IS}=0,5$ mg/ml). Jako interní standard byl použit tribenzylamine (TBA) rozpuštěný v 96 % ethanolu. Takto připravený vzorek byl 15 min extrahován v ultrazvukové lázni. Alikvot (0,5 ml) vyextrahovaného vzorku byl převeden do 2 ml GC krimpovací vialky. Vialky byly umístěny na topnou jednotku, kde byly 12 minut při teplotě 150 °C. Při tomto procesu došlo k odpaření rozpouštědla a k dekarboxylaci. Následně bylo do vialky napipetováno 1,5 ml ethanolu, vialky byly uzavřeny a protřepány. Vzorky byly připraveny ve třech opakováních.

4.3.1 Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID)

Obsah THC a CBD byl stanoven na GC/FID (Agilent Technologies 6890 N – Network GC system), který je uveden na Obrázku č. 16. Podmínky analýzy uvádí Tabulka č. 1. Metodika je shodná s verifikovanou metodou United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) uveřejněnou OSN (UNODC, 2009), která popisuje celý proces přípravy.

Tabulka č. 1: Podmínky analýzy

Kolona	15 m x 0.25 mm, 0.25 µm
Mobilní fáze	5% Difenyl – 95% Dimethylpolysiloxane
Nosný plyn	dusík, 1.1 ml/min, konstantní tok
Režim nástřiku	Split 280°C
Dělicí poměr	20:1
Teplotní program	2 min při 200 °C, 10 °C/min 200-240 °C, 2 min při 240 °C
Teplota Detektoru	300 °C
Nástřik	1.5 µl

(UNODC, 2009)

4.3.2 Příprava kalibrační křivky

Kalibrační křivka byla připravena dle výše uvedené metody. Kvantifikace účinných látek byla provedena metodou interního standardu. K přípravě kalibrační řady byly použity chemikálie: 1 mg THC/ml v methanolu, 1 mg CBD/ml v methanolu (SigmaAldrich, ČR), jako interní standard byl použit tribenzylamine (TBA) v koncentraci 0.5 mg/ml. Tabulka č. 2 uvádí množství použitých chemikálií pro přípravu jednotlivých kalibračních úrovní.

Tabulka č. 2: Množství použitých chemikálií pro přípravu kalibrační křivky

Standard 1	50 µl ID* + 500 µl ISTD*-roztok + ~ 950 µl ethanol	0.1%
Standard 2	250 µl ID + 500 µl ISTD-roztok + ~ 750 µl ethanol	0.5%
Standard 3	50 µl SS* + 500 µl ISTD-roztok + ~ 950 µl ethanol	1%
Standard 4	150 µl SS + 500 µl ISTD-roztok + ~ 850 µl ethanol	3%
Standard 5	250 µl SS + 500 µl ISTD-roztok + ~ 750 µl ethanol	5%
Standard 6	500 µl SS + 500 µl ISTD-roztok + ~ 500 µl ethanol	10%
Standard 7	800 µl SS + 500 µl ISTD-roztok + ~ 200 µl ethanol	16%

***Zásobní roztok (SS):** 1 mg THC/ml metanol, 1 mg CBD/ml methanol

* **Pomocné ředění (ID):** 100 µl zásobní roztok + 900 µl etanol

* **Roztok vnitřního standardu (ISTD):** 0.5 mg tribenzylamine (TBA)/ml etanol

0,1 % - 16 %: koncentrace THC a CBD

Pro THC byla kalibrační řada připravena v koncentracích 0,1 – 16 %. Pro CBD byla připravena stejným způsobem v koncentracích 0,1 – 10 %.

(UNODC, 2009)



Obrázek č.11: Homogenizovaná směs konopí



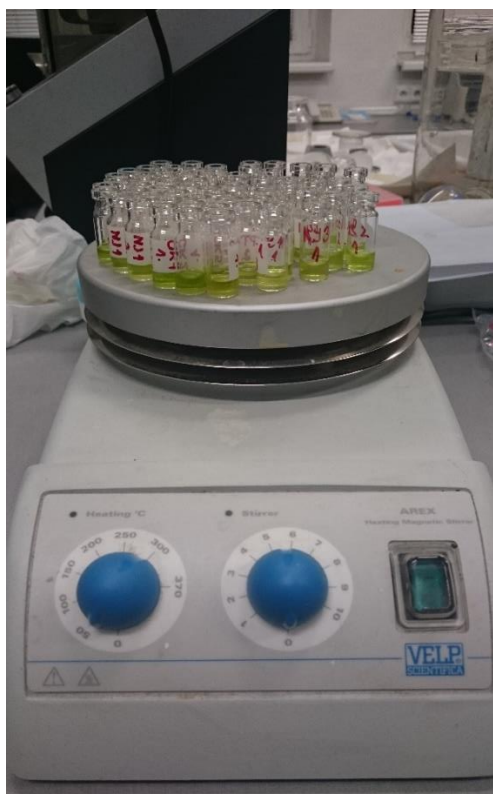
Obrázek č. 12: Navážený homogenizovaný rostlinný materiál



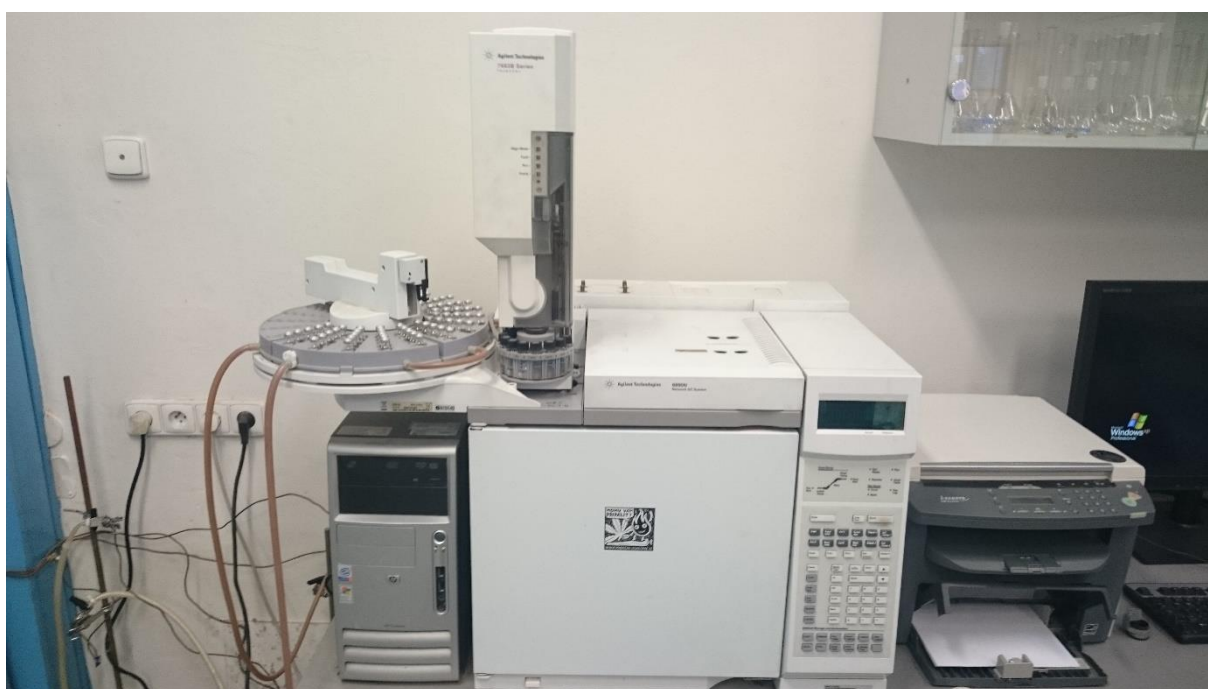
Obrázek č. 13: Analytická váha Santorius CPA224S-OCE (Česká republika)



Obrázek č. 14: Ultrazvuková lázeň Bandelin SONOREX Digitec (Německo)



Obrázek č. 15: 2 ml vialky na topné jednotce před odpařením rozpouštědla



Obrázek č. 16: Agilent Technologies 6890N – Network GC system (USA)

5 Výsledky

Výsledkem analýzy bylo vyhodnocení naměřených obsahů dvou hlavních kanabinoidů Δ^9 -THC a CBD u odrůdy McLove ve třech pěstebních systémech. Bylo vyhodnocováno kolísání obsahu Δ^9 -THC a CBD mezi pěstebními cykly v rámci jedné pěstební technologie, dále byl hodnocen průměrný obsah Δ^9 -THC a CBD každé jedné technologie za čtyři pěstební cykly. Posledním hodnoceným faktorem byl výnos v jednotlivých pěstebních systémech.

5.1 Aeroponie

U pěstebního systému Aeroponie jsou hodnoceny pouze dva pěstební cykly, z důvodu zrušení používání tohoto systému. Z tohoto důvodu nebyly statistické výsledky Aeroponie vyhodnocovány pomocí ANOVA, ale byl použit T-test.

Δ^9 -THC

Nulová hypotéza (H_0) = V průměrných hodnotách Δ^9 -THC v rámci jedné pěstební technologie není statisticky významný rozdíl.

Alternativní hypotéza (H_1) = V průměrných hodnotách Δ^9 -THC v rámci jedné pěstební technologie je statisticky významný rozdíl.

U F-testu (viz obr.17) vyšla hodnota $p > \alpha$, tudíž nemůžu zamítnout H_0 (rozptyly se rovnají). Pro porovnání průměrných hodnot byl použit dvouvýběrový T-test. Zde bylo $p < \alpha$. Zamítám H_0 . Mezi dvěma cykly pěstební technologie Aeroponie existuje statisticky významný rozdíl z hlediska obsahu Δ^9 -THC.

Obrázek č. 17: Dvouvýběrový T-test pro Δ^9 -THC

T-test pro nezávislé vzorky (melichar_thc_cbd)											
Pozn.: Proměnné byly brány jako nezávislé vzorky											
Skup. 1 vs. skup. 2	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	Hodnota t	sv	p	Poč. plat. skup. 1	Poč. plat. skup. 2	Sm. odch. skup. 1	Sm. odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
AERO THC vs. AERO THC	7,856367	12,52769	-8,12655	4	0,001247	3	3	0,439280	0,893472	4,136944	0,389337

CBD

Nulová hypotéza (H_0) = V průměrných hodnotách CBD v rámci jedné pěstební technologie není statisticky významný rozdíl.

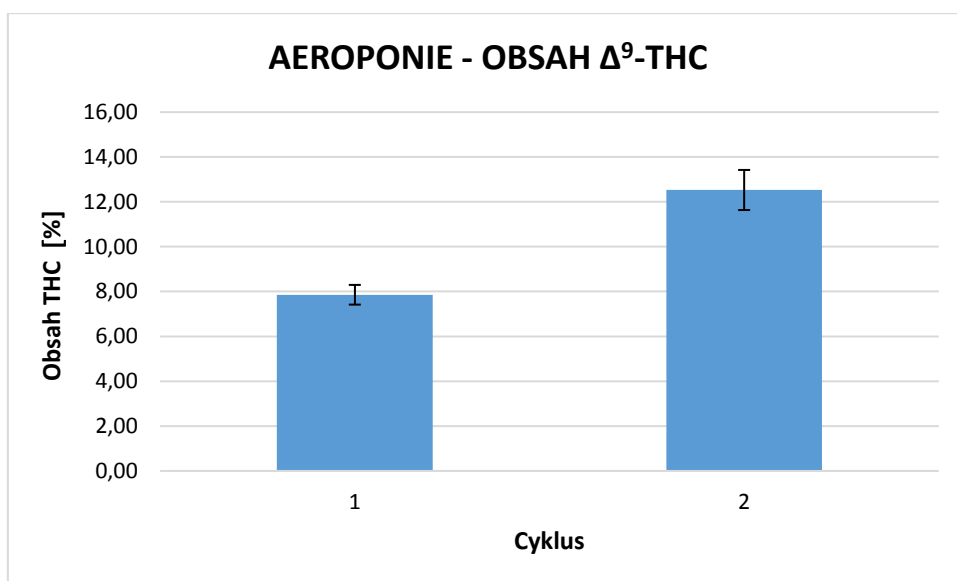
Alternativní hypotéza (H_1) = V průměrných hodnotách CBD v rámci jedné pěstební technologie je statisticky významný rozdíl.

U F-testu (viz obr.18) vyšla hodnota $p > \alpha$, tudíž nemůžu zamítnout H_0 (rozptyly se rovnají). Pro porovnání průměrných hodnot byl použit dvouvýběrový T-test. Zde bylo $p < \alpha$. Zamítám H_0 . Mezi dvěma cykly pěstební technologie Aeroponie existuje statisticky významný rozdíl z hlediska obsahu CBD.

Obrázek č. 18: Dvouvýběrový T-test pro CBD

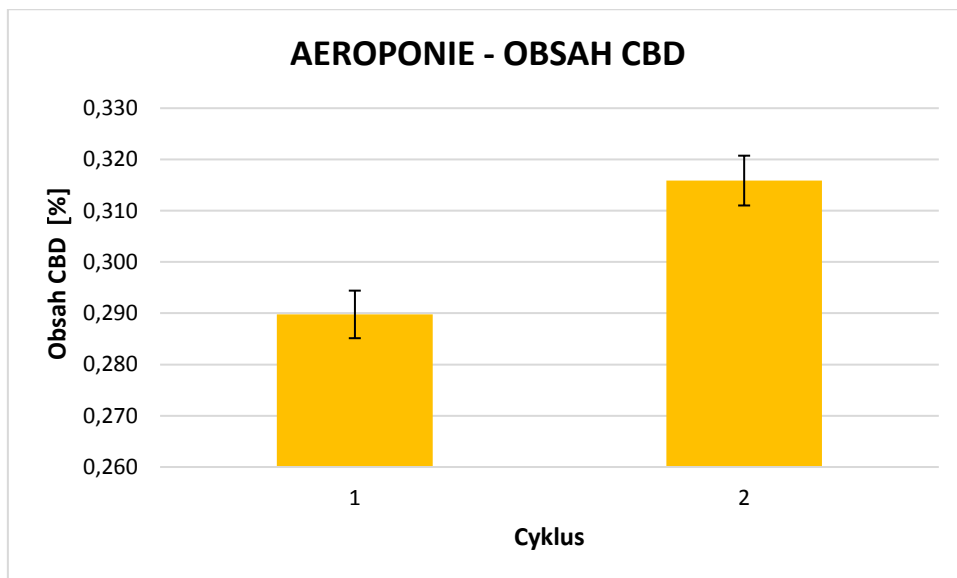
Skup. 1 vs. skup. 2	T-test pro nezávislé vzorky (melichar_thc_cbd)										
	Průměr skup. 1	Průměr skup. 2	Hodnota t	sv	p	Poč. plat. skup. 1	Poč. plat. skup. 2	Sm.odch. skup. 1	Sm.odch. skup. 2	F-poměr Rozptyly	p Rozptyly
AERO CBD vs. AERO CBD	0,289770	0,315881	-6,73330	4	0,002535	3	3	0,004639	0,004857	1,095923	0,954233

Graf č.1: Obsah Δ^9 -THC v Aeroponickém systému



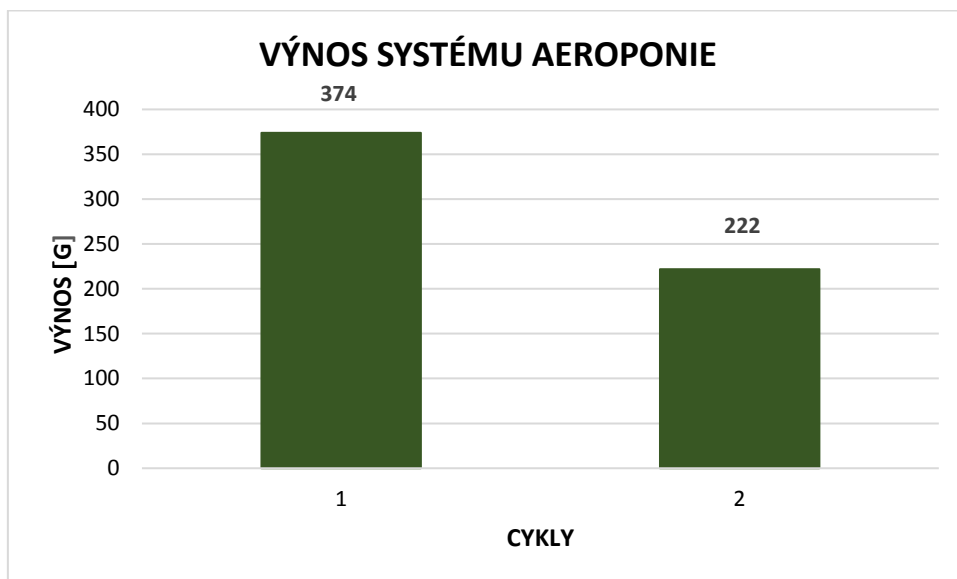
*Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č.2: Obsah CBD v Aeroponickém systému



*Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č.3: Výnos v aeroponickém systému

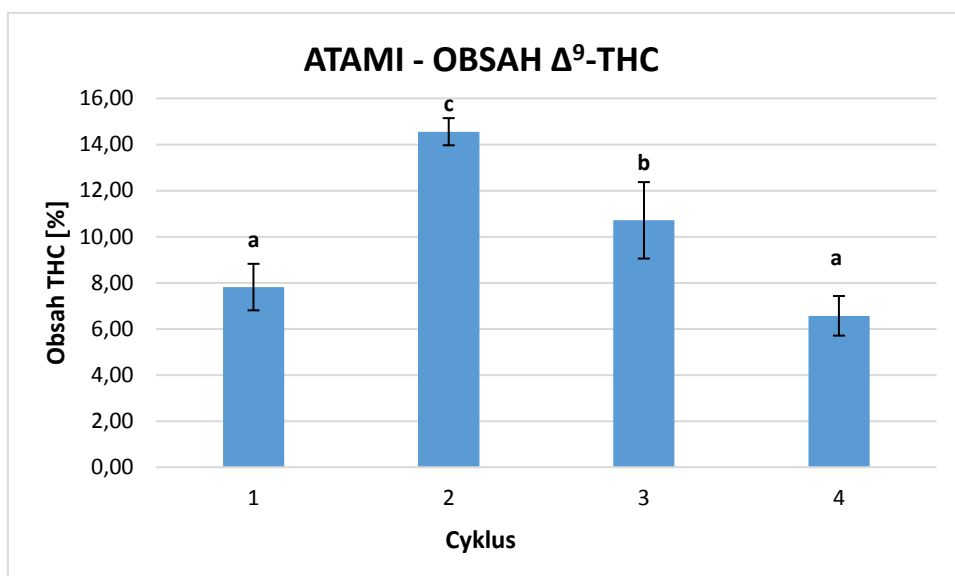


Z grafů č. 1-2 je zřejmé, že obsah Δ^9 -THC i CBD je vyšší ve 2. pěstebním cyklu, nicméně klesá celkový výnos viz graf č.3. Průměrný obsah Δ^9 -THC byl v 1. cyklu (7,86 % \pm 0,439 %) a ve 2. cyklu stoupl obsah Δ^9 -THC na hodnotu 12,53 % \pm 0,893 %). Průměrný obsah CBD byl v 1. cyklu (0,290 % \pm 0,00464 %) a ve druhém cyklu stoupl obsah CBD na hodnotu (0,316 % \pm 0,00486 %). Výnos tohoto systému byl v 1. cyklu 374 g a v 2. cyklu činí výnos 222 g.

5.2 Atami Wilma

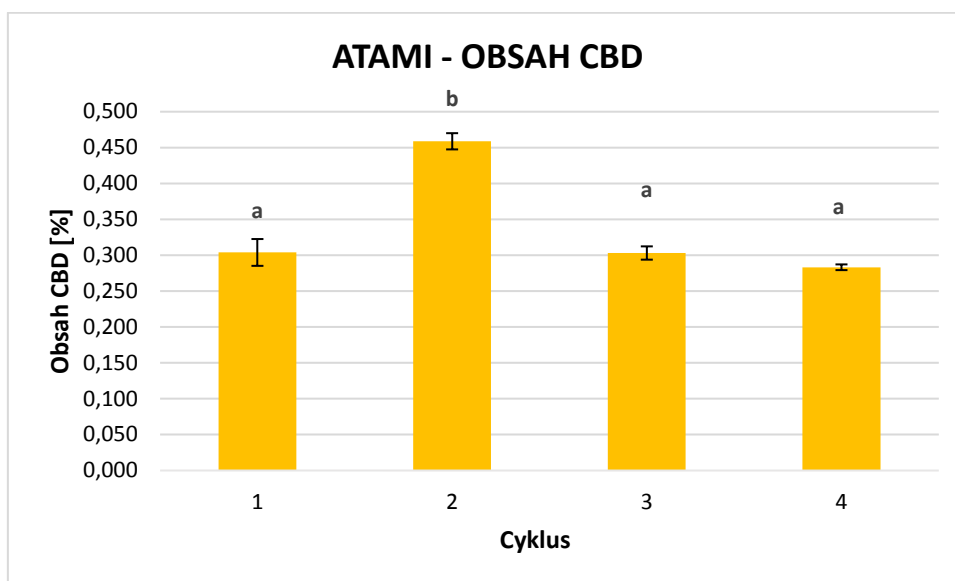
V následujících dvou grafech je znázorněno kolísání obsahu Δ^9 -THC a CBD u pěstebního systému Atami Wilma, kde byly hodnoceny čtyři pěstební cykly. Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny metodou analýzy rozptylu (ANOVA). Rozdíly mezi středními hodnotami byly vyhodnoceny testem Tukeyho HSD (honestly significant difference) v počítačovém programu STATISTICA 12.

Graf č.4: Obsah Δ^9 -THC v systému Atami Wilma



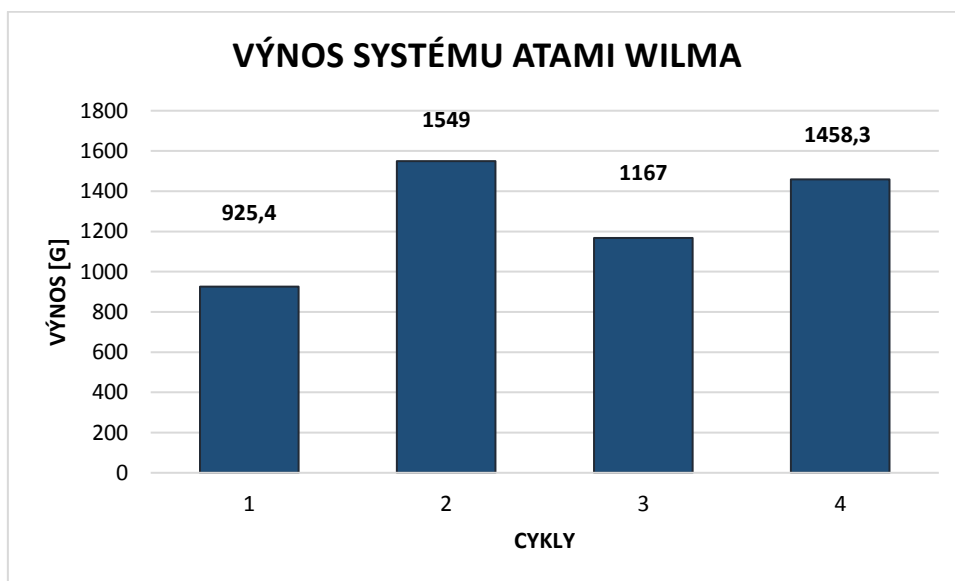
***Stejná písmena** (a, b, c) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl hodnocené pěstební technologie v rámci cyklu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č.5: Obsah CBD v systému Atami Wilma



*Stejná písmena (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl hodnocené pěstební technologie v rámci cyklu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č. 6: Výnos systému ATAMI WILMA

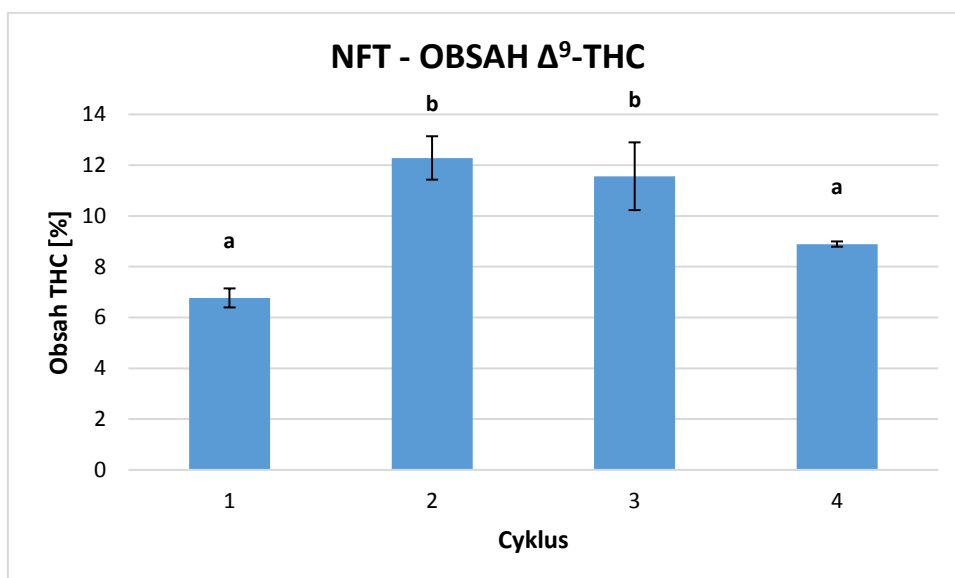


Na grafech č. 4 a 5 je krásně vidět analogie obsahů Δ^9 -THC a CBD v jednotlivých pěstebních cyklech. Lze pozorovat nárůst ve druhém pěstebním cyklu a následné snižování obsahů účinných látek v dalších cyklech. Nejvyšší obsah obou sledovaných kanabinoidů byl ve druhém cyklu, kde množství Δ^9 -THC bylo ($14,55 \% \pm 0,689 \%$) a množství CBD ($0,459 \% \pm 0,0113 \%$), oproti tomu nejnižší obsah byl u obou kanabinoidů ve čtvrtém cyklu s hodnotou Δ^9 -THC ($6,57 \% \pm 0,859 \%$) a CBD ($0,283 \% \pm 0,00398 \%$). Taktéž výnos byl nejvyšší ve druhém pěstebním cyklu s hodnotou 1549 g a nejnižší výnos systému ATAMI WILMA byl v prvním cyklu a činil 925,4 g.

5.3 Nutrient Film Technique

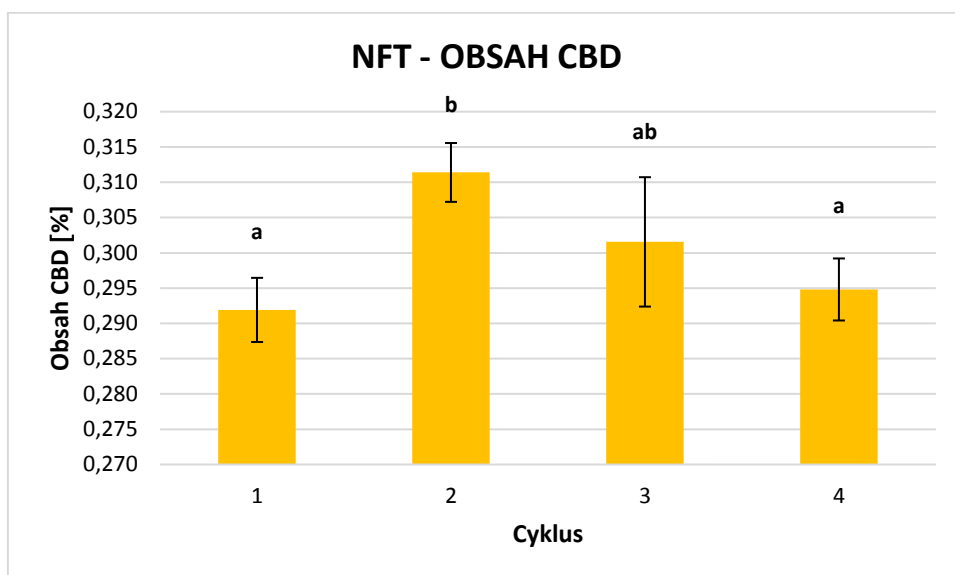
V následujících dvou grafech je znázorněno kolísání obsahu Δ^9 -THC a CBD u pěstebního systému Atami Wilma, kde byly hodnoceny čtyři pěstební cykly. Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny metodou analýzy rozptylu (ANOVA). Rozdíly mezi středními hodnotami byly vyhodnoceny testem Tukeyho HSD (honestly significant difference) v počítačovém programu STATISTICA 12.

Graf č.7: Obsah Δ^9 -THC v systému Nutrient Film Technique



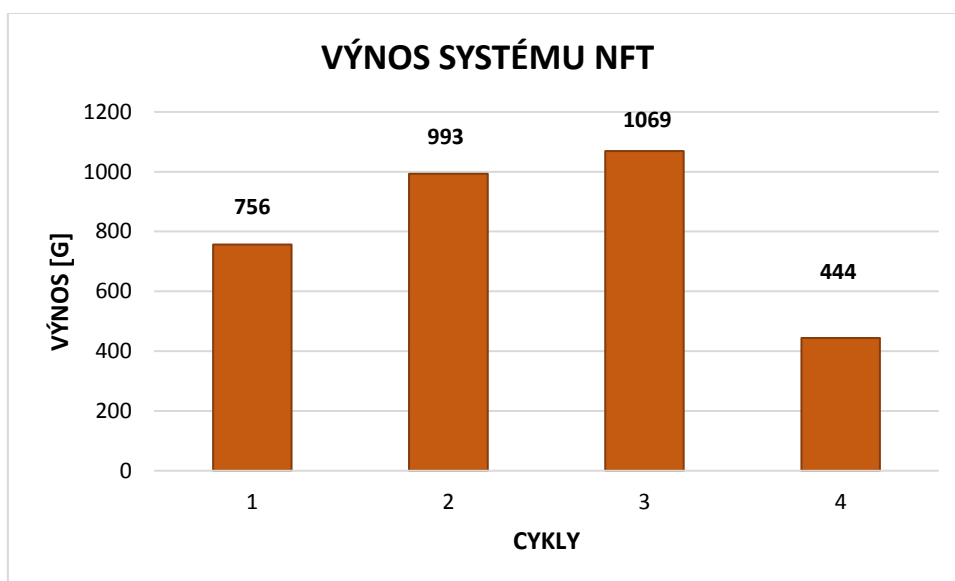
***Stejná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl hodnocené pěstební technologie v rámci cyklu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č.8: Obsah CBD v systému Nutrient Film Technique



***Stejná písmena** (a, b) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl hodnocené pěstební technologie v rámci cyklu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf č.9: Výnos systému Nutrient Film Technique



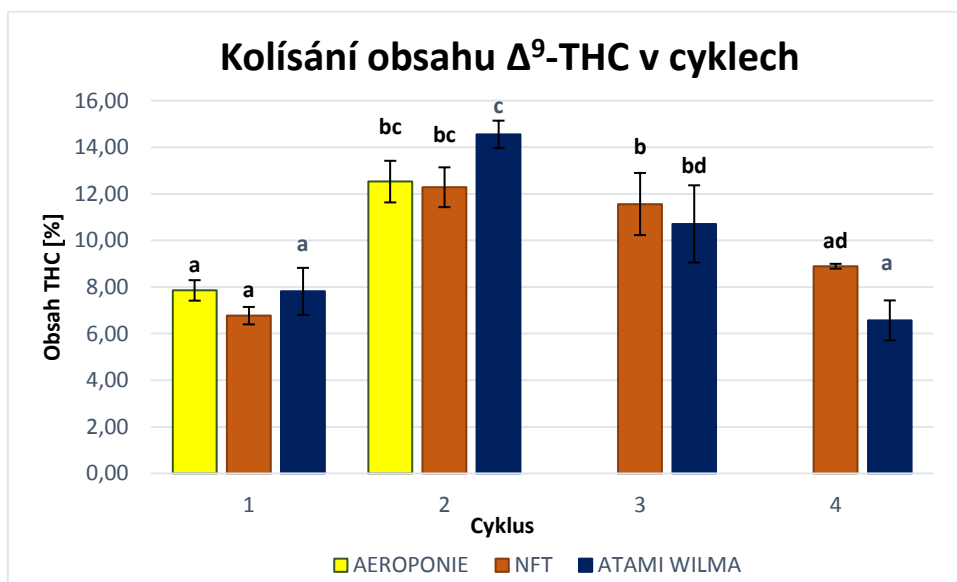
V grafech č. 7 a 8 opět můžeme pozorovat úzkou závislost obsahu Δ^9 -THC s CBD v jednotlivých pěstebních cyklech. Jako u předešlých technologií se jeví jako nejpotentnější cyklus č. 2, kde obsah Δ^9 -THC činí (12,29 % \pm 0,854 %) a obsah CBD činí (0,311 % \pm 0,00417 %). U systému NFT vychází velmi dobře i cyklus č. 3, kde rozdíl v obsahu Δ^9 -THC je pouze 0,72 % a u CBD 0,01 % a zároveň zde byl nejvyšší výnos, který činil 1069 g. Nejnižší

obsah jak Δ^9 -THC, tak i CBD připadá opět na cyklus č.1 a nejnižší výnos vykazuje cyklus č. 4.

5.4 Porovnání pěstebních technologií

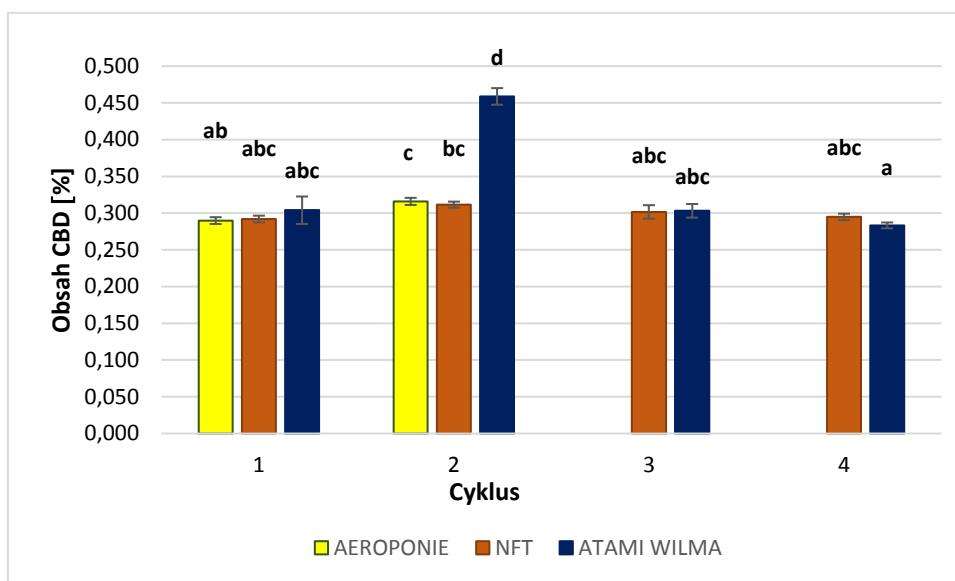
V následujících dvou grafech můžeme vidět vývoj obsahu Δ^9 -THC a CBD ve všech pěstebních technologiích a cyklech. Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny metodou analýzy rozptylu (ANOVA). Rozdíly mezi středními hodnotami byly vyhodnoceny testem Tukeyho HSD (honestly significant difference) v počítačovém programu STATISTICA 12.

Graf č.10: Obsah Δ^9 -THC v jednotlivých systémech a cyklech



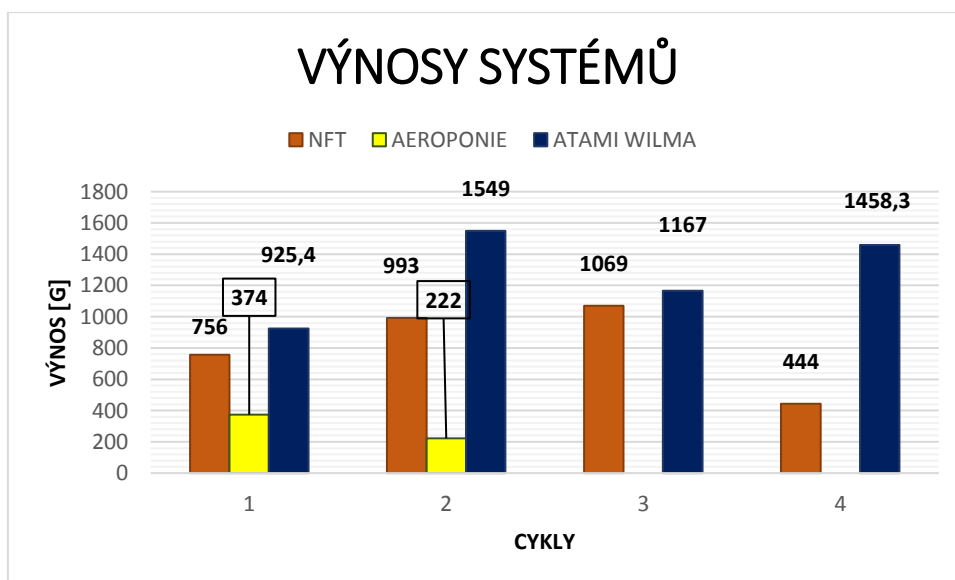
***Stejná písmena** (a, b, c, d) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl hodnocené pěstební technologie v rámci cyklu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku. **Použité zkratky v grafu:** AT – Atami Wilma, NFT – Nutrient Film Technique, AERO – Aeroponie, čísla 1–4 = číslo cyklu.

Graf č.11: Kolísání obsahu CBD v jednotlivých systémech a cyklech



***Stejná písmena** (a, b, c, d) vyjadřují statisticky neprůkazný rozdíl hodnocené pěstební technologie v rámci cyklu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. **Úsečky** v grafu znázorňují směrodatnou odchylku. **Použité zkratky v grafu:** AT – Atami Wilma, NFT – Nutrient Film Technique, AERO – Aeroponie, čísla 1–4 = číslo cyklu.

Graf č.12: Výnos v jednotlivých systémech a cyklech



Z grafů výše lze vypožorovat, že ze všech třech pěstebních technologií byl nejpotentnější cyklus č. 2 a to jak z hlediska obsahu Δ^9 -THC, tak i CBD. Pokud se podíváme na obsahy CBD u všech technologií a všech cyklů s výjimkou 2. cyklu u technologie Atami Wilma, lze tvrdit, že obsah CBD je stabilní. Nejvyšší naměřená hodnota CBD byla ve druhém cyklu systému Atami Wilma (0,46 %), naopak nejnižší naměřený obsah CBD byl ve 4. cyklu Atami Wilma

s hodnotou (0,28 %). Oproti tomu obsahy Δ^9 -THC mají značné výkyvy. Celkově nejvyšší obsah byl naměřen 2. cyklu Atami Wilma s hodnotou (14,55 %) a nejnižší obsah byl u 4. cyklu Atami Wilma (6,57 %). Je zajímavé, že systém Atami Wilma má nejvyšší a zároveň nejnižší naměřené hodnoty u Δ^9 -THC i CBD. Z celkové sklizně nezávisle na odrůdě bylo sklizeno nejvíce při druhém pěstebním cyklu, a to 2764 g. Nejmenší výnos byl ve čtvrtém cyklu, kde bylo sklizeno pouze 1902,3 g. Pokud se podíváme na nejvýnosnější systém, je jím systém ATAMI WILMA, který měl v každém cyklu nejlepší výsledky. Naopak nejmenší výnosy vykazoval systém aeroponie.

6 Diskuze

Hlavním cílem práce je sledovat výnosy sušeného květenství, dále obsah a stabilitu dvou hlavních kanabinoidů v léčebném konopí v průběhu čtyř pěstebních cyklů, v závislosti na různém způsobu hydroponického pěstování. Dalším cílem je na základě naměřených dat posoudit, zda je možné doporučit vybraný genotyp (McLove) pro léčebné použití a také jakou pěstební technologii je vhodné použít pro dosažení co nejlepších výsledků.

Adams (2012) uvádí, že rostlina reaguje na několik faktorů, ale nejdůležitějším faktorem pro změnu z růstu do kvetení je světlo. Konopí potřebuje pro období vegetačního růstu 18 hodin světla a 6 hodin tmy. Ideální fotoperiodou pro tvorbu květu je 12 hodin světla a 12 hodin tmy. Tímto způsobem byly pěstovány všechny námi analyzované odrůdy.

Z výsledků vyplývá, že jsou mezi jednotlivými pěstebními systémy statisticky významné rozdíly z hlediska obsahu Δ^9 -THC a CBD. Obsahy Δ^9 -THC se pohybovaly v rozmezí – 6,57 % – 14,55 %. Obsah CBD byl v rozmezí 0,283 % – 0,459 %. Statisticky významné rozdíly v obsahu kanabinoidů jsou zaznamenány také v každém jednom systému v rámci jednotlivých cyklů. Tyto rozdíly mohou mít za následek vnější faktory. Lužný a Povolná (2013) uvádějí, že obsah účinných látek v rostlinách je určován množstvím dodaných živin, světlem, teplotou, vlhkostí vzduchu, dále mají vliv choroby a škůdci, jenž množství svými škodlivými vlivy snižují a v neposlední řadě zkušenosti pěstitele. Lze tvrdit, že zvolený genotyp (McLove) je stabilní z hlediska obsahu CBD, ale hodnoty obsahu Δ^9 -THC jsou značně rozdílné a jeho stabilita není příliš vysoká. Brenneisen (2007) uvádí, že největší vliv na obsah nejen Δ^9 -THC a CBD, ale všech účinných látek má genetická predispozice pěstovaných rostlin, ale je zřejmé, že obsah Δ^9 -THC je vyjma genotypu závislý i na ostatních faktorech. Atakan (2012) uvádí, že kanabinoidy mají silný potenciál působením určitých vlivů degradovat, či transformovat svou strukturu. Již dlouho dobu je známo že jevy jako je světlo, vzduch, teplota mají významný podíl na stabilitu a obsah kanabinoidů ve sklizeném konopí, tudíž správné uskladnění je velice důležité pro přesnost analýzy.

Aeroponický systém je velice efektivní systém, který je však velmi náročný na provoz a údržbu a často se u něho vyskytly technické problémy a z toho důvodu byl po druhém pěstebním cyklu zrušen. Z výsledků vyplývá, že mezi dvěma pěstebními cykly aeroponie byl

statisticky významný rozdíl v obsahu účinných látek. Jak je patrné z grafu č. 1-3 obsah Δ^9 -THC je ve druhém cyklu takřka dvojnásobný oproti cyklu č. 1. Latta a Eaton (1975) uvádějí, že hořčík (Mg) a železo (Fe) jsou důležité pro syntézu THC, tudíž množství a poměr dodaných živin mohou ovlivnit obsah biologicky aktivních látek. Oproti tomu výnos tohoto systému byl větší v prvním cyklu nežli ve druhém. Rykaczewska (2016) uvádí, že rostliny přijímají živiny a vodu ze vzduchu, proto je okysličení maximální. To však není výhoda při kultivaci konopí, protože kořenový val dosahuje enormních rozměrů na úkor nadzemních částí rostlin. Z tohoto důvodu se tento systém hojně využívá k produkci rostlin pěstovaných pro podzemní části.

Systém Nutrient Film Technique (NFT) je jeden z nejpoužívanějších aktivních systémů pro kultivaci nejen konopí. Z grafů č. 9 lze vyčíst, že výsledky tohoto systému z hlediska výnosu jsou uspokojivé. Nejvyšší výnos byl v cyklu číslo 3 s hodnotou 1069 g, naproti tomu cyklus číslo 4 byl nejnižší s obsahem 444 g. To může být zapříčiněno například tím, že dobře hnojené a robustní rostliny v květové fázi mohou vyvinout veliký tlak na rockwoolovou kostku ve které byly rostliny usazeny. Kořenový systém byl stlačen na dno nádoby a mohlo dojít k omezení nebo dokonce k zastavení průtoku živného roztoku. Taxier (2015) uvádí, že rostliny mohou být stresovány nedostatkem živného roztoku, způsobené zacpanými kanálky nečistotami, nefunkčností čerpadla, nebo pokud dojde k výpadku elektrického proudu. Z grafů č. 7 a 8 lze pozorovat nárůst obsahu Δ^9 -THC a CBD ve druhém a třetím pěstebním cyklu, kdy nejvyšší hodnota Δ^9 -THC byla 12,29 % a hodnota CBD byla 0,311 %. Obě tyto hodnoty byly shodně změřeny ve 2. pěstebním cyklu. V grafech č. 7 a 8 opět můžeme pozorovat úzkou závislost obsahu Δ^9 -THC s CBD v jednotlivých pěstebních cyklech, což lze vysvětlit genetickou predispozicí vybraného genotypu (McLove). Adams (2012) uvádí, že kvalitativní i kvantitativní parametry ovlivňuje cyklování zálivky, které vyžaduje určitou zkušenost pěstitele, funkčnost čerpadla a časovače.

Jako nejlepší kultivační metoda se ukázala metoda ATAMI WILMA. Benefity tohoto systému spočívají v pořizovací ceně, velmi snadné údržbě a možnosti použití jakéhokoliv pěstebního substrátu. Dalším specifickým je skutečnost, že zálivku lze provádět svépomocí, nebo s využitím automatického zavlažovacího systému. Z grafu č. 6 je patrné, že vyjma 1. cyklu, kdy byl výnos 925 g, pokaždé přesáhl 1000 g z jednoho cyklu. Graf č. 12 nám jasně ukazuje, že systém ATAMI WILMA ve výnosu předčil ostatní kultivační systémy. Obsah

CBD byl v tomto systému stabilní a pohyboval se okolo 0,3 %, pouze u cyklu č. 2 byl změřen obsah CBD 0,459 %, což byla nejvyšší naměřená hodnota. Janatová et al. (2018) uvádí stejné výsledky, ve stabilitě účinných látek a ve výnose s použitím stejné pěstební technologie. Taxier (2015) uvádí, že optimální poměr a množství dodaných živin mohou ovlivnit obsah biologicky aktivních látek v rostlinách. Obsah Δ^9 -THC byl u tohoto systému velmi kolísavý. V nejpotentnějším 2. pěstebním cyklu dosáhl obsah tohoto kanabinoidu hodnoty 14,55 %, ale v cyklu č. 4 naopak nejnižší naměřené hodnoty – 6,57 %. Tento propad obsahu Δ^9 -THC může být zapříčiněn degradací genotypu, chybou pěstitele nebo zmíněným dávkováním a poměrem živin. Dle Rykaczewska (2016) může často za zhoršení stavu rostlin v hydroponickém systému nedostatek kyslíku v roztoku, způsobený nevhodnou cirkulací a nebo nízkým provzdušňováním. Vyšší teplota vody v zásobníku ovlivňuje rozpustnost kyslíku ve vodě, a proto teploty nad 22 °C považujeme za problémové, doporučená teplota je 16-20 °C. Taxier (2015) uvádí, že dalším problémem jsou škodlivé mikroorganismy a jejich spóry, růst řas v pěstebním systému a v neposlední řadě mrtvý organický materiál jako jsou listy a kořeny, které mohou zapříčinit hnilobu a šíření nemocí.

7 Závěr

Na základě naměřených výsledků můžeme tvrdit, že hypotéza byla naplněna. Mezi třemi vybranými pěstebními technologiemi byl statisticky významný rozdíl v obsahu kanabinoidů Δ^9 -THC a CBD, a i výnos lze ovlivnit použitou pěstební technologií. Vyhodnocení obsahu kanabinoidů genotypu McLove u vybraných pěstebních technologií bylo uskutečněno na základě metodiky, která je shodná s verifikovanou metodou UNODC.

Dle výsledků bylo zjištěno, že nejvyšší průměrný obsah Δ^9 -THC byl zaznamenán u systému aeroponie, kde jeho hodnota byla 10,192 %, který ale byl po 2. pěstebním cyklu z technických důvodů zrušen. Nejvyšší průměrná hodnota CBD byla změřena u systému ATAMI WILMA a činí 0,337 %. Nejvyšší výnosy byly v každém pěstebním cyklu u systému ATAMI WILMA a průměrný výnos byl 1274,93 g. Na základě těchto dat bych doporučil tento systém jako nejlepší, jak z hlediska obsahu účinných látek, tak z hlediska výnosu.

Vybraný genotyp McLove je z hlediska obsahu CBD stabilní, ale hodnoty obsahu Δ^9 -THC jsou značně rozdílné a jeho stabilita není příliš vysoká. Lze konstatovat, že obsah účinných látek je ze značné části závislý na genotypu, ale důležitý vliv mají i další faktory.

8 Seznam zkratk

AEA N-arachidonoylethanolamin, anandamid

AIDS *Acquired Immune Deficiency Syndrome* Syndrom získané imunitní nedostatečnosti

ANOVA Analýza rozptylu

2-AG 2-arachidonoylglycerol

CB Kanabinoidní receptor

CBC Kanabichromen

CBD Kanabidiol

CBDA Kyselina kanabidiolová

CBDV Kanabidivarin

CBG Kanabigerol

CBGA Kyselina kanabigerolová

CBN Kanabinol

ČR Česká republika

ES Endokanabinoidní systém

EU Evropská unie

Fe Železo

GC – FID Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem

MRSA Meticilin-rezistentní zlatý stafylokok

Mz ČR Ministerstvo zdravotnictví České republiky

Mg Hořčík

OSN Organizace spojených národů

SAKL Státní agentura pro konopí pro léčebné použití

SÚKL Státní ústav pro kontrolu léčiv

TBA Tribenzylamine

THC Tetrahydrokanabinol

THCA Kyselina tetrahydrokanabinolová

THCV Tetrahydrokanabivarin

UNODC Úřad OSN pro drogy a kriminalitu

11-OH-THC 11-hydroxy-tetrahydrokanabinol

9 Seznam použité literatury:

- Abel EL. 1980. *Marihuana: The First Twelve Thousand Years*. Springer, New York.
- Adams P. 2012. *Weedology – Marihuana, vše o pěstování konopí*. Positive Publishers b.v.b.a, Nizozemsko.
- AlShrouf A. 2017. Hydroponics, Aeroponic and Aquaponic as Compared with Conventional Farming. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS)* **27**:247–255.
- Atakan Z. 2012. Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology* **2**:241-254.
- Ben-Shabat S, Fride E, Sheskin T, Tamiri T, Rhee MH, Vogel Z. 1998. An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. *European Journal of Pharmacology* **353**:23-31.
- Berrea B. 2012. Typy a triky: Tvarování rostlin. *Legalizace* **3**:22–24.
- Bolognini D, Costa B, Maione S, Comelli F, Marini P, Marzo DV, Parolaro D, Ross AR, Gauson AL, Cascio GM, Pertwee GR. 2010. The plant cannabinoid Δ^9 -tetrahydrocannabivarin can decrease signs of inflammation and inflammatory pain in mice. *British Journal of Pharmacology* **160**:677-687.
- Booth M. 2004. *Konopí – dějiny*. BB/art s.r.o, Praha.
- Boucher F, Cosson L, Paris MR, Unger J. 1974. *Cannabis sativa* L.: races chimiques ou varietes. *Plantes medicinales et phytotherapie* **8**:20-31.
- Brenneisen R. 2007. Chemistry and analysis of phytocannabinoids and other cannabis constituents. Pages 17-49 in ElSohly AM, editors. *Marijuana and the cannabinoids*. Humana press, Totowa

Brown VK. 2015. Budtender certification - Medical cannabis program. Sri Lakshmi Services, New York.

Camp RC. 1998. Subsurface Drip Irrigation: A Review. American Society of Agricultural and Biological Engineers **41**:1353-1367.

Cervantes J. 2006. Marijuana Horticulture: The indoor/outdoor medical grower's bible. Van Patten Publishing, Vencouver.

Clark CC. 1993. Marijuana Botany: An Advanced Study: The Propagation and Breeding of Distinctive Cannabis. 2nd ed. Ronin Publishing, Oakland.

Conrad Ch. 2001. Konopí pro zdraví: Fakta o léčivých účincích marihuany. Pragma, Praha.

Česko. Vyhláška č. 236 ze dne 17. září 2015 o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. In: Sběrka zákonů české republiky. 2015. částka 98. s. 2978 – 2992. ISSN: 1211–1244. Dostupné také z http://www.mzcr.cz/legislativa/dokumenty/vyhlaska-c236/2015-sb-o-stanoveni-podminek-pro-predepisovanipripravudist_10798_2439_11.html >

Dasberg S, Or D. 1999. Drip irrigation. Springer – Verlag, Berlin.

Debnár AV. 2005. Konopí a marihuana – Spojené státy americké a cannabis v první třetině 20. století. Volvox Globator, Praha.

Devane WA, Dysarz FA 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. 1988. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. Molecular Pharmacology **34**:605-13.

Dupal L. 1994. Kniha o marihuaně: Kompilace. Mat'a, Praha.

Dupal L. 2010. Kniha o marihuaně. 3. vyd. Mat'a, Praha.

Dussy EF, Hamberg C, Luginbühl M, Schwerzmann T, Briellmann AT. 2005. Isolation of Δ^9 -THCA-A from hemp and analytical aspects concerning the determination of Δ^9 -THC in cannabis products. *Forensic Science International* **149**:3-10.

ElSohly MA. 2007. *Marijuana and the cannabinoids*. Humana Press, Totowa.

Fellermeier M, Zenk MH. 1998. Prenylation of olivetolate by hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol. *FEBS Letters* **427**:283-285.

Fischedick JT, Hazekamp A, Erkelens T, Choi YH, Et Verpoorte R. 2010. Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. *Phytochemistry* **71**:2058-73.

Fišar Z. 2006. Fytokanabinoidy. *Chemické listy* **100**:233-242.

Fišar Z. 2008. Kanabinoidy a duševní poruchy. *Česká a slovenská psychiatrie* **104**:297-307.

Fišar Z. 2009. Phytocannabinoids and Endocannabinoids. *Current Drug Abuse Reviews* **2**:51-75.

Flores-Sanchez JI, Verpoorte R. 2008. PKS Activities and Biosynthesis of Cannabinoids and Flavonoids in *Cannabis sativa* L. *Plants. Plant and Cell Physiology* **49**:1767-1782.

Fournier D, Karch F, Bride JM, Hall L, Berge JB, Spierer P. 1989. *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase gene: Structure, evolution and mutations. *Journal of Molecular Biology* **210**:15-22.

Gabrielová H. 2008. *Konopí – biomasa pro život*. Konopa, Chvaleč.

Gaoni Y, Mechoulam R. 1964. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *Journal of the American Chemical Society* **86**:1646-1647.

Grotenhermen F, Russo E. 2002. *Cannabis and cannabinoids*. Pharmacology, toxicology, and therapeutic potential. The Haworth Press, New York.

Hayden AL. 2006. Aeroponic and hydroponic systems for medicinal herb, rhizome, and root crops. *HortScience* **41**:536–538.

Hampson AJ, Axelrod J, Grimaldi M, Wink D. 1998. Cannabidiol and (-)Delta9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America **95**:8268-73.

Hanuš LO. 2009. Pharmacological and therapeutic secrets of plant and brain (endo)cannabinoids. Medicinal research reviews **29**:213-271.

Hanuš LO. 2012. Endogenní kanabinoidy, receptory, fyziologické role. Revue české lékařské akademie **8**:8-12.

Hershey RD. 1994. Solution Culture Hydroponics: History and Inexpensive Equipment. The American Biology Teacher **56**:111-118.

Hillig WK., Mahlberg GP. 2004. A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in *cannabis* (*Cannabaceae*). American journal of botany **91**:966-975.

Chotai A, Young PC. 2014. Of a Nutrient Film Technique (NFT). Mathematical and Control Applications in Agriculture and Horticulture **1**:33.

Iuvone T, Esposito G, Esposito R, DiRosa M, Izzo AA, Santamaria R. 2004. Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from *Cannabis sativa*, on beta-amyloid-induced toxicity in PC12 cells. Journal of neurochemistry **89**:134-141.

Izzo AA, Borrelli F, Capasso R, DiMarzo V, Mechoulam R. 2009. Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutical opportunities from an ancient herb. Trends in pharmacological science **30**:515-527.

Izzo AA, Capasso R, Aviello G, Borrelli F, Romano B, Piscitelli F, Gallo L, Capasso F, Orlando P, Marzo DV. 2012. Inhibitory effect of cannabichromene, a major non-psychoactive cannabinoid extracted from *Cannabis sativa*, on inflammation-induced hypermotility in mice. British Journal of Pharmacology **166**:1444-1460.

Jensen MH. 1997. Hydroponics worldwide. In International Symposium on Growing Media and Hydroponics **481**:719-730.

Janatová A, Fraňková A, Tlustoš P, Hamouz K, Božík M, Klouček P. Yield and cannabinoids contents in different cannabis (*Cannabis sativa* L.) genotypes for medical use. *Industrial Crops and Products* **112**:363-367.

Knight G, Hansen S, Connor M, Poulsen H, Mcgovern C, Stacey J. 2010. The results of an experimental indoor hydroponic Cannabis growing study, using the 'Screen of Green' (ScrOG) method. Yield, tetrahydrocannabinol (THC) and DNA analysis. *Forensic Science International* **202**:36-44.

Kvasnička T. 2008. Význam endokanabinoidního systému v regulaci energetické rovnováhy. *Vnitřní lékařství* **54**:191-194.

Latta RP, Eaton BJ. 1975. Seasonal fluctuations in cannabinoid content of Kansas Marijuana. *Economic Botany* **29**:153-163.

Lužný J, Povolná J. 2013. Teoretické předpoklady pro léčbu kanabinoidy u neurodegenerativních chorob. *Česká a slovenská psychiatrie* **109**:232-238.

Malfait AM, Andreakos E, Feldmann M, Gallily R, Malik AS, Mechoulam R, Sumariwalla PF. 2000. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **97**:9561-9566.

Mathre LM. 1997. *Cannabis in Medical Practice: A Legal, Historical and Pharmacological Overview of the Therapeutic Use of Marijuana*. McFarland & Company, Inc., Jefferson.

de Meijer EP, Bagatta M, Carboni A, Crucitti P, Mandolino G, Moliterni VM, Ranalli P. 2003. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. *Genetics* **163**:335-346.

Mechoulam R, Shvo Y. 1963. Hashis I the structure of cannabidiol. *Tetrahedron* **19**:2073–2078.

Mechoulam R, Ben-Shabat S. 1999. From gan-zi-gun-nu to anandamide and 2-arachidonoylglycerol: the ongoing story of cannabis. *Natural Product Reports* **16**:131-143.

Miovský M, et al. 2008. Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium. Grada, Praha.

Moliterini VMC, Cattivelli L, Mondolino G, Ranalli P. 2004. The sexual differentiation of *Cannabis sativa* L.: A morfological and molecular study. *Euphytica* **140**:95-106.

Nečas M. 2011. Kanabinoidy – charakteristika, rozdelenie, mechanizmus účinku. *Paliatívna medicína a liečba bolesti* **4**:57-60.

Peč J. 2013. Konopí aneb THC, CBD, CB₁, CB₂ atp. *Praktické lékárenství* **9**:131-134.

Potter DJ. 2009. The propagation, characterisation and optimisation of *Cannabis sativa* L. as a phytopharmaceutical. Kings college, London.

Raharjo JT, Chang TW, Choi HY, Peltenburg-Looman MGA, Verpoorte R. 2003. Olivetol as product of a polyketide synthase in *Cannabis sativa* L. *Plant Science* **166**:381-385.

Razdan RK, Handrick GR, Puttick AJ, Zitko BA. 1972. Hashish. 6: Conversion of (-)-Delta1(6)-tetrahydrocannabinol to (-)-Delta1(7)-tetrahydrocannabinol - Stability of (-)-Delta1- and (-)-Delta1(6)-tetrahydrocannabinols. *Experientia* **28**:121-122.

Rosenthal E. 2011. The big book of buds, volume 4: Marijuana varieties from the World's great seed breeders . Quick American Archives, USA.

Rosenthaler S, Huber A, Huu HC, Kolmanz C, Kranner B, Krewenka C, Moldzio R, Pöhn B, Rausch WD. 2014. Differences in receptor binding affinity of several phytocannabinoids do not explain their effects on neural cell cultures. *Neurotoxicology and teratology* **46**:49-56.

Russo BE. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology* **163**:1344-1364.

Russo BE, et al. 2008. Phytochemical and genetic analyses of ancient *Cannabis* from Central Asia. *Journal of experimental botany* **59**:4171-82.

Russo BE, McPartland MJ. 2003. Cannabis is more than simply D9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology* **165**:431-432.

Russo BE. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British journal of pharmacology* **163**:1344-1364.

Rustichelli C, Ferioli V, Baraldi M, Zanolini P, Gamberini G. 1998. Analysis of cannabinoids in fiber hemp plant varieties (*Cannabis sativa* L.) by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia* **48**:215-222.

Rykaczewska K. 2016. The potato minituber production from microtubers in aeroponic culture. *Plant, Soil and Environment* **62**:210–214.

Sallan SE, Frei E, Zinberg NE. 1975. Antiemetic effect of delta-9-tetrahydrocannabinol in patients receiving cancer chemotherapy. *The New England journal of medicine* **293**:795-797.

Sirikantaramas S, Ishikawa Y, Morimoto S, Shoyama Y, Tanaka Y, Taura F. 2005. Tetrahydrocannabinolic Acid synthase, the enzyme controlling marijuana psychoactivity, is secreted into the storage cavity of the glandular trichomes. *Plant cell physiology* **46**:1578-1582.

Stafford P. 1997. *Encyklopedie psychedelických látek*. Volvox Globator, Praha.

Stout MJ, Boubakir Z, Ambrose JS, Purves WR, Edward J. 2012. The hexanoyl-CoA precursor for cannabinoid biosynthesis is formed by an acyl-activating enzyme in *Cannabis sativa* trichomes. *The Plant Journal* **71**:353-365.

Taura F, Morimoto S, Shoyama Y. 1996. Purification and characterization of cannabidiolic-acid synthase from *Cannabis Sativa* L. *Journal of biological chemistry* **271**:17411-17416.

Taxier W. 2015. *Hydroponie pro každého: Vše o domácím pěstování*. Mama Publishing, Paris.

Tsou K, Brown S, Mackie K, Sanudo-Pena MC, Walker JM. 1998. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* **83**:393-411.

Turner CE, Elsohly MA, Et Boeren EG. 1980. Constituents of *Cannabis-Sativa* L. XVII. A review of the natural constituents. *Journal of Natural Products* **43**:169-234.

Tyrlíková I. 2012. Marijuana a epilepsie, mýty a fakta. *Neurologie pro praxi* **13**:333-335.

UNODC (United Nations office on drugs and crime). 2009. Recommended methods for the identifications and analysis of cannabis and cannabis products. United Nations, New York.

Vanhoenacker G, VanRompae P, DeKeukeleire D, Sandra P. 2002. Chemotaxonomic features associated with flavonoids of cannabinoid-free cannabis (*Cannabis sativa* subsp. *Sativa* L.) in relations to hops (*Humulus lupulus* L.). *Natural Product Research* **16**:57-63.

Vanhove W, Meert N, Van Damme P. 2011. Factors determining yield and quality of illicit indoor cannabis (*Cannabis spp.*) production. *Forensic Science international* **212**:158-163.

Verpoorte R, Schripsema J, Leer T. 1989. The Alkaloids. *Chemistry and Pharmacology* **34**:331-398.

Virovets VG. 1996. Selection for non-psychoactive hemp varieties (*Cannabis Sativa* L.) in the CIS (former USSR). *Journal of the International Hemp Association* **3**:13-15.

Wohlfarth A, Mahler H, Auwärter V. 2011. Rapid isolation procedur efor D9-tetrahydrocannabinolic acid A (THCA) from Cannabis sativa using two flash chromatography systems. *Journal of chromatography* **879**:3059-3064.

Zima T. 2012. Biochemické stanovení produktů metabolismu kanabinoidů. *Revue české lékařské akademie* **8**:8-12.

Zuardi AW, Crippa JAS, Guimaraes FS, Hallak JEC, Moreira FA. 2006. Cannabidiol, a *Cannabis sativa* constituent, as an antipsychotic drug. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **39**:421-429.

10 Seznam grafů, obrázků a tabulek

Grafy

Graf č.1: Obsah Δ^9 -THC v Aeroponickém systému.....	42
Graf č.2: Obsah CBD v Aeroponickém systému.....	43
Graf č.3: Výnos v aeroponickém systému.....	43
Graf č.4: Obsah Δ^9 -THC v systému Atami Wilma.....	44
Graf č.5: Obsah CBD v systému Atami Wilma.....	45
Graf č. 6: Výnos systému ATAMI WILMA.....	45
Graf č.7: Obsah Δ^9 -THC v systému Nutrient Film Technique.....	46
Graf č.8: Obsah CBD v systému Nutrient Film Technique.....	47
Graf č.9: Výnos systému Nutrient Film Technique.....	47
Graf č.10: Obsah Δ^9 -THC v jednotlivých systémech a cyklech.....	48
Graf č.11: Kolísání obsahu CBD v jednotlivých systémech a cyklech.....	49
Graf č.12: Výnos v jednotlivých systémech a cyklech.....	49

Obrázky

Obrázek č.1: Rozdíl mezi <i>Cannabis sativa</i> a <i>Cannabis sativa, ssp. Indica</i>	12
Obrázek č. 2: Chemická struktura fytoKANABINOIDŮ.....	16
Obrázek č. 3: Schéma biosyntézy KANABINOIDŮ.....	17
Obrázek č. 4: Strukturní vzorec Δ^9 -THC.....	19
Obrázek č. 5: Strukturní vzorec CBD.....	19
Obrázek č. 6: Princip systému NFT.....	30
Obrázek č. 7: Systému NFT.....	31
Obrázek č. 8: Princip systému Aeroonie.....	32
Obrázek č. 9: Systém Atami Wilma.....	34
Obrázek č. 10: Atami Wilma.....	34
Obrázek č.11: Homogenizovaná směs konopí.....	38
Obrázek č. 12: Navážený homogenizovaný rostlinný materiál.....	38
Obrázek č. 13: Analytická váha Santorius CPA224S-OCE.....	39
Obrázek č. 14: Ultrazvuková lázeň Bandelin SONOREX Digitec.....	39
Obrázek č. 15: 2 ml vialky na topné jednotce před odpařením rozpouštědla.....	40
Obrázek č. 16: Agilent Technologies 6890 N – Network GC systém.....	40
Obrázek č. 17: Dvouvýběrový T-test pro Δ^9 -THC.....	41

Obrázek č. 18: Dvouvýběrový T-test pro CBD.....	42
-------------------------------------------------	----

Tabulky

Tabulka č. 1: Podmínky analýzy.....	37
-------------------------------------	----

Tabulka č. 2: Množství použitých chemikálií pro přípravu kalibrační křivky.....	37
---------------------------------------------------------------------------------	----