

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Odběr vybraných mikroživin rostlinami léčebného konopí
pěstovaného hydroponicky**

Diplomová práce

Bc. Michal Panský

Výživa a ochrana rostlin

Vedoucí práce

prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc., dr. h. c.

Konzultant

Ing. Matěj Malík

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Odběr vybraných mikroživin rostlinami léčebného konopí pěstovaného hydroponicky" 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 14. 4. 2022

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu mé diplomové práce panu prof. Ing. Pavlu Tlustošovi, CSc., dr. h. c. a konzultantovi panu Ing. Matěji Malíkovi za jejich cenné rady, připomínky a čas, který mi věnovali. Poděkování patří také mé rodině a přátelům za pomoc a podporu během studia.

Odběr vybraných mikroživin rostlinami léčebného konopí pěstovaného hydroponicky

Souhrn

Léčebné konopí, obsahující vyšší koncentrace kanabinoidů, je předmětem zájmu naší společnosti, neboť se v poslední době ukazuje jako slibný lék na stále větší počet zdravotních potíží. Stejně tak nachází ve stále větší míře uplatnění produkty z konopí v kosmetice. Využití konopí pro medicínské účely však vyžaduje pochopení vlivů na jeho růst a obsah kanabinoidů. U produkce je totiž vyžadována v co nejvyšší možné míře maximální stálost koncentrace kanabinoidů. Jedním z faktorů, které ji mohou ovlivnit, jsou mikroživiny, neboť jsou nepostradatelné pro růst a vývoj rostlin a mají nezastupitelnou úlohu v jejich metabolismu.

Vlastní experiment se zaměřuje na příjem železa, zinku, bóru, manganu, molybdenu a mědi léčebným konopím (*Cannabis indica*). Je vyhodnocena koncentrace těchto prvků v jednotlivých částech konopí (květ, list, stonek), které je pěstováno ve dvou odlišných variantách cirkulace hydroponického roztoku. Práce zkoumá vliv dvou hydroponických systémů - „drain to waste“ a recirkulačního - na koncentraci mikroživin v třech částech rostlin (stonek, list, květ). Ze získaných výsledků lze zjistit několik trendů ukazujících rozdílné výsledné koncentrace mikroživin. U žádné ze sledovaných mikroživin však není rozdíl mezi systémy zcela zřejmý. Důvodem je velmi pravděpodobně problém spojený s komplexností celého systému příjmu živin rostlinami, kdy vliv nemají jen koncentrace mikroživin, ale i makroprvků a další růstové podmínky.

Obsah THCA se pohyboval v rozsahu 8,1 – 18,1 %. V práci byl popsán odlišný trend ve vývoji tohoto obsahu s ohledem na použité výživové systémy. Obě varianty hydroponie vykazovaly odlišný trend vývoje koncentrace v čase. Zpočátku vyšší koncentrace u varianty „drain to waste“ zaznamenaly později pokles a v závěrečné fázi experimentu došlo u této varianty k dosažení pouze 42,3 % hodnoty výnosu varianty s recirkulací.

Klíčová slova: léčebné konopí, mikroživiny, odběr rostlinami, kanabinoidy

Uptake of Selected Micronutrients by Medical Cannabis Plants Grown in Hydroponic Conditions

Summary

Medical cannabis research has developed in recent years. The use of medical cannabis for healthcare and pharmaceuticals production puts high demands on the growing environment for optimal production of the desired compounds – cannabinoids. However, the use of cannabis for medicinal purposes requires an understanding of the effects on its growth and cannabinoids content. One of these influences are micronutrients, as they are essential for plant growth and metabolism.

This thesis focuses on the uptake of major micronutrients as iron, zinc, boron, manganese, molybdenum, copper by medical cannabis. The concentration of these elements in different parts of the cannabis plant (flower, leaf, stem) grown in two variants of hydroponic solution circulation is examined in this experiment. The experiment investigates the effect of the use of recirculation and "drain to waste" hydroponic systems.

The obtained results showed several trends indicating different micronutrient concentrations in these two systems. However, for none of the micronutrients studied, the difference between the systems is clear. This is most likely due to the complexity of the whole plant nutrient uptake system, where not only the concentrations of micronutrients but also macronutrients and other growth conditions have an important influence.

The THCA content ranged from 8.1 to 18.1%. A different trend of THCA content for the two hydroponic systems was described. The two variants of hydroponics showed a different trend in concentration over time. The initially higher THCA concentrations in the "drain to waste" type variant later decreased, and in the final phase of the experiment, this variant only reached 42.3% of the yield of the recirculation variant.

Keywords: medical cannabis, micronutrients, uptake by plants, cannabinoids

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Konopí	10
3.1.1 Botanická charakteristika.....	10
3.1.2 Využití konopí	12
3.1.3 Legislativa pěstování léčebného konopí.....	13
3.1.4 Kanabinoidy.....	14
3.1.5 Distribuce kanabinoidů v rostlinách konopí.....	15
3.1.6 Tvorba biomasy a spektrum kanabinoidů.....	16
3.2 Minerální výživa rostlin	16
3.2.1 Význam mikroprvků.....	17
3.3 Hydroponické pěstování	24
3.3.1 Recirkulační hydroponický systém.....	25
3.3.2 „Drain to waste“ hydroponický systém	26
4 Metodika	27
4.1 Hydroponický experiment	27
4.1.1 Základní design pěstebního experimentu	27
4.1.2 Závlaha a výživa	27
4.1.3 Mikroklima	28
4.1.4 Osvětlení	28
4.1.5 Rostlinný materiál.....	29
4.1.6 Stanovení živin v rostlinách konopí	30
4.1.7 Stanovení obsahu kanabinoidů	30
4.2 Statistické vyhodnocení dat	31
5 Výsledky	32
5.1 Vliv typu hydroponie na množství sušiny	32
5.2 Vliv typu hydroponie na koncentraci mikroživin	34
5.2.1 Železo	34
5.2.2 Mangan	35
5.2.3 Zinek.....	36
5.2.4 Měď	38
5.2.5 Bór	39
5.2.6 Molybden.....	40
5.3 Vliv typu hydroponie na obsah a výnos kanabinoidů	42

6	Diskuze.....	44
7	Závěr	47
8	Literatura.....	48

1 Úvod

Pěstování konopí (*Cannabis sativa* L.) jako kulturní plodiny má dlouhou tradici. V průběhu času a v jednotlivých regionech se při pěstování vyvinuly různé variety s odlišnými morfologickými znaky a také s různým obsahem látek tzv. kanabinoidů, které jsou pro tento rod typické. Tradiční pěstování konopí v našem regionu obnášelo pěstování tzv. technického konopí, které se využívalo pro účely výroby tkanin, lan a k dalším funkcím.

V Asii, především v oblasti Indie, se pěstovalo konopí s vyšším obsahem kanabinoidů, které se využívalo i pro léčebné potřeby. Vysoký obsah především halucinogenních kanabinoidů vyvolal o konopí velký zájem, zejména při jeho zneužívání jako lehké drogy. Současně se však konopí a látky v něm obsažené dostaly do pozornosti moderní medicíny a farmacie. Zde je předmětem výzkumu a začíná se uplatňovat v rámci léčby širokého spektra onemocnění. S tímto rozvojem přichází i legalizace minimálně některých typů konopí a jeho rozšířené pěstování za účelem produkce léčivých látek.

Při produkci léčivých látek obsažených v konopí je žádoucí udržení požadované úrovně kvality a jejich stabilní koncentrace. Obsah kanabinoidů, stejně tak jako celkový výnos biomasy a obsah prvků (živin) v jednotlivých částech rostlin, je ovlivněn mnoha faktory. Lze jmenovat intenzitu osvětlení, závlahy, teplotu a samozřejmě výživu rostlin během celé doby pěstování. Přestože je léčebné konopí pěstováno v co nejstabilnějších podmínkách, obvykle sklenících či pěstebních boxech s využitím hydroponie, je stále relativně málo poznatků o vlivu jednotlivých faktorů na kvalitu a kvantitu produkovaných látek.

Jedním z faktorů, které jejich obsah a složení ovlivňují, jsou mikroživiny. V rámci literární rešerše si práce klade za cíl přinést aktuální poznatky o vlivu jednotlivých mikroživin na růst konopí a obsah kanabinoidů.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotézy práce:

Na základě dosavadních informací lze předpokládat, že koncentrace a poměr mikroprvků v živném roztoku hrají zásadní roli a následně tedy budou mít vliv na jejich obsah v nadzemní biomase a jednotlivých rostlinných částech (květ, list, stonek) rostlin léčivého konopí. Obsah kanabinoidů, tvorba květenství a množství celkové nadzemní biomasy rostlin léčivého konopí bude sekundárně taktéž ovlivněno.

Cíle práce:

Vypracovat literární rešerši na téma působení mikroživin na tvorbu biomasy a spektrum kanabinoidů rostlin léčivého konopí. Dále popsat význam jednotlivých mikroživin a jejich vzájemné interakce v živném roztoku. V experimentální části porovnat příjem a odběr jednotlivých mikroprvků z živných roztoků a vyhodnotit jejich obsah v celkové nadzemní biomase a jednotlivých částech (květ, list, stonek) hydroponicky pěstovaných rostlin léčivého konopí.

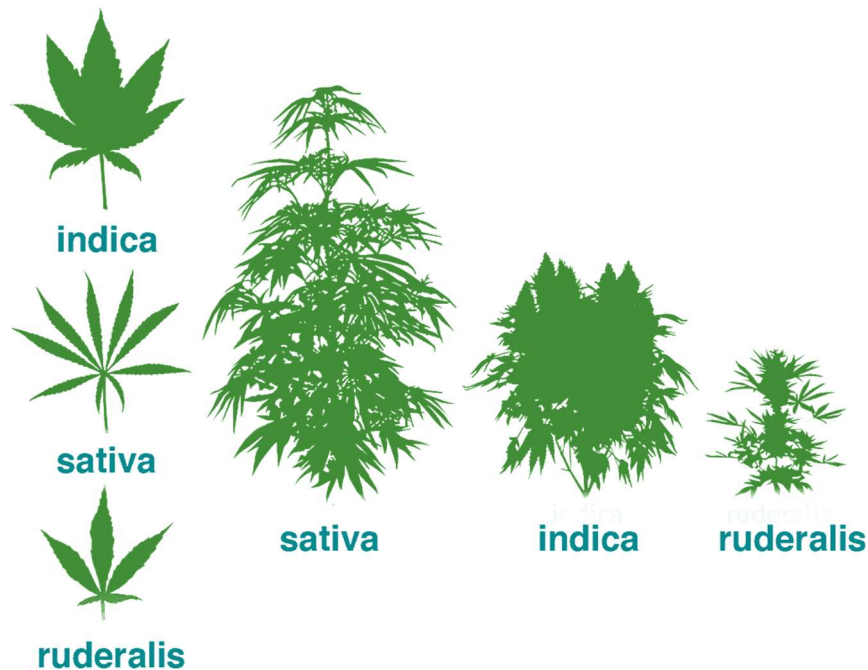
3 Literární rešerše

3.1 Konopí

3.1.1 Botanická charakteristika

Konopí se řadí do čeledi konopovitých (*Cannabaceae*). Rozdělení zástupců rodu konopí v rámci čeledi není jednoznačné. Literární zdroje uvádějí různé přístupy k zařazení konopí do botanické taxonomie. Konzervativním přístupem je zařazení konopí jako jednoho druhu, tj. konopí seté (*Cannabis sativa*). S ohledem na to, že je konopí značně polymorfní, je ve světě rozlišována řada forem, variet i poddruhů. U nás je nejnověji druh uváděn ve třech infraspecifických taxonech, a to: konopí seté (*Cannabis sativa*), konopí indické (*Cannabis indica*), a konopí rumištní (*Cannabis ruderalis*) (Kovář, 2012). Právě konopí indické se využívá pro léčebné využití. Jednotlivé druhy se od sebe liší vzrůstem, obsahem tetrahydrokanabinolu (THC), vlastnostmi nažek a také zásadními rozdíly ve struktuře dřevnatého oddenku (Clarke et al., 2022). Někdy bývají dané druhy brány jako jeden a dělení se bere pouze na úrovni poddruhů (Pollio, 2016).

Jak bylo uvedeno, jednotlivé taxony vykazují značnou polymorfii, která vznikla na základě odlišných podmínek, ve kterých se vyvíjely (Obr. 1). Nicméně všechny taxony vykazují stejné základní znaky. Kořen konopí má kulovitý tvar a je kolmého růstu. Hloubka kořenů dosahuje až do 2 metrů. Rostliny dosahují různé výšky, která je dána druhem, odrůdami a růstovými podmínkami. Běžně dosahuje výšky i přes 3 metry. Stonek je tvořen dlouhými vlákny, která jsou velmi pevná. Listy jsou hluboce dlanitosečné s vroubkováním a pilovitými okraji. Listy se skládají z různého počtu čepelí, obvykle z 5 až 10. Uspořádání listů na stonku je vstřícné nebo střídavé. Morfologie listů se liší mezi jednotlivými poddruhy konopí (Obr. 1 a 2).



Obr. 1: Rozdíl v morfologii listů a rostlin konopí (Zdroj: <https://kopac.cz/indica-vs-sativa-falesna-dichotomie/>).

Květy konopí jsou uspořádány v květenství typu lata kompaktního tvaru. Rostlina je dvoudomá, tzn. samičí a samčí orgány jsou oddělené. Samčí rostliny mají zpravidla slabší konstituci a světlejší barvu než samičí. Samčí květy jsou přisedlé, vyrůstají z úžlabí listů. Dosahují velikosti okolo 5 mm a jsou tvořeny 5 okvětními lístky a 5 tyčinkami. Květy jsou zelené, žluté, popř. načervenalé barvy. Samičí květy jsou stopkaté, velké asi 1 cm, s dvěma žlutobílými bliznami. Květy jsou bez okvětních lístků, ale jsou kryty listeny. Obsahují dvě žlutobílé blizny. Trvání doby květu závisí na odrůdě, podmínkách pěstování a opylení. Samčí rostliny vykvétají přibližně o měsíc dříve než rostliny samičí (Kovář, 2012).



Obr. 2. Rostlina *Cannabis sativa* subsp. *indica* (Lam.) Small & Cronq. - konopí indické (Zdroj: <https://www.biolib.cz/cz/image/id223623/>)

3.1.2 Využití konopí

Historie pěstování konopí je dlouhá. Důkazy o jeho pěstování se datují tisíce let zpět. První doklady o používání konopí pochází v Babylonie a jsou více než 7 tisíc let staré. Za kolébku konopí lze považovat Střední Asii. Odtud se kulturní konopí šířilo dále na východ a jihovýchod a posléze i na západ. V Evropě se konopí pěstuje po mnoho staletí. Z archeologických výzkumů na našem území je doloženo, že konopí bylo používáno již Kelty v době laténské (4 stol. př. n. l. až přelom letopočtu). Jeho pevné vlákno bylo nepostradatelné pro výrobu plátna na lodní plachty, na pytle, k výrobě vodních hadic i na tkaniny, lana a motouzy. V současné době je pěstováno i jako energetická plodina. Konopí je také praktický a levný stavební materiál se skvělými tepelnými a zvukově izolačními vlastnostmi (Kára et al., 2005).

Úloha konopí se měnila v závislosti na době a místě a jeho využití sahalo od výroby vláken přes náboženské, léčebné a rekreační účely až po využití k léčivým účelům. Už od starověku byly známy jeho antibakteriální, analgetické a antibiotické účinky. V Asii se rozšířilo pěstování indického konopí, které obsahuje vyšší koncentraci kanabinoidů. Právě tento typ konopí se v poslední době ukazuje jako slibný lék na stále větší počet zdravotních potíží.

Přestože seznam akceptovaných indikací je v současné době předmětem rozsáhlého hodnocení, existují významné důkazy podporující účinnost konopí při léčbě chronické bolesti, epilepsie (Suraev et al., 2017), zánětlivých střevních onemocnění, roztroušené sklerózy, neurodegenerativních onemocnění (Vallée et al., 2021), diabetu, rakoviny (Bernstein et al., 2019a; Schoeman et al., 2020) a dalších. Stejně tak nachází produkty z konopí uplatnění v kosmetice – při výrobě masážních olejů, mastí, krémů, mýdel, šampónů či balzámů na rty (Robinson, 2000). Konopné masti se také používají při léčbě široké škály nemocí a poranění, jako jsou oděrky, lupénka, ekzémy, popáleniny, bércové vředy a dalších kožní onemocnění (Kubánek, 2008).

3.1.3 Legislativa pěstování léčebného konopí

Použití a pěstování léčebného konopí je v mnoha státech legislativně ošetřeno (Callaghan et al., 2021) a obecně dochází k rozvoji možností pěstování léčebného konopí. Stejně tak je možnost pěstování konopí řešena i v české legislativě. Konopí pro léčebné použití je zpravidla používáno jako doplňková a podpůrná léčba ke zmírnění projevů doprovázejících vážná onemocnění. Pro tyto účely jsou používány sušené samičí květy rostliny, u nichž se obsah účinných látek může pohybovat od 0,3 % do 21 % u THC (tetrahydrokanabinol) a od 0,1 % do 19 % u CBD (kanabidiol) (SUKL, 2022). Konopí s obsahem THC pod 0,3 % (tzv. technické konopí) lze pěstovat bez nutnosti povolení státními orgány, nicméně plochy větší než 100 m² je dle ust. § 29 zákona o návykových látkách třeba ohlásit místně příslušnému celnímu orgánu.

V České republice bylo pěstování konopí regulováno legislativou, především zákonem o návykových látkách (167/1998 Sb.) a vyhláškou o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití (236/2015 Sb.) a nově také zákonem č. 366/2021 Sb. Léčebné konopí lze v Česku pěstovat pouze se souhlasem Státního ústavu pro kontrolu léčiv (resp. pod Státní agenturou pro konopí pro léčebné použití) Ten přiděluje licence k pěstování konopí a zajišťuje ostatní související činnosti, jako je např. dohled nad jeho pěstováním a distribucí do lékáren. Pěstitelé musí dodržovat stanovené povinnosti, mezi něž patří zejména povinnost zajistit pěstování a zpracování v krytých prostorách vhodných pro tento účel. V současné době je jediným certifikovaným pěstitelem vybraným na základě výběrového řízení na dodávky konopí pro léčebné použití od roku 2019 společnost Elkoplast Slušovice, s.r.o. (SAKL, 2022).

Potřeba pěstování v uzavřených prostorách a zajištění stabilních podmínek pro růst léčebného konopí s ohledem na stálost obsahu látek v produkované biomase omezuje pěstování

prakticky výhradně na používání hydroponie. Hydroponické systémy vytvářejí kontrolované prostředí, které je neustále monitorováno a podrobováno důkladným kontrolám, aby byla zaručena konzistentní a homogenní kvalita úrody v průběhu různých ročních období. Vlastní metody používaných hydroponických systémů jsou popsány v samostatné kapitole.

3.1.4 Kanabinoidy

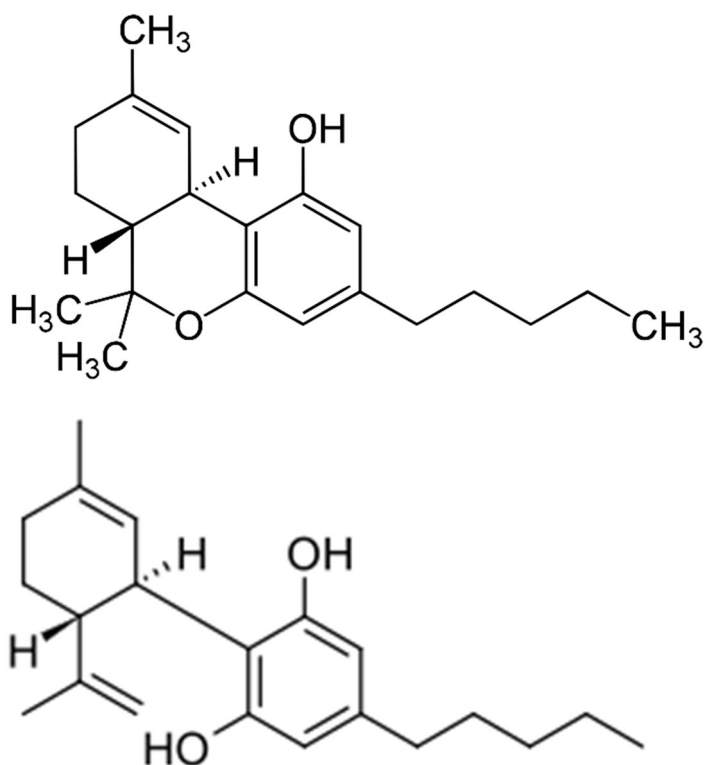
Jak bylo uvedeno, léčivé účinky jsou dány přítomností kanabinoidů. Jejich produkce probíhá především v epidermálních žlázách konopí (Pate, 1994). Kanabinoidů je v konopí obsažena celé řada. Celkem bylo objeveno víc než 100 látek (Atakan, 2012). Mezi nejvýznamnější patří tetrahydrokanabinol (THC) a kanabidiol (CBD) (Obr. 3).

Tetrahydrokanabinol (THC) má výrazné psychoaktivní účinky (Hrdina et al., 2004). Zákaz pěstování konopí ve světě je zaveden právě z důvodu působení změny vědomí nebo omámení. V minulosti se většina konopných odrůd šlechtila za účelem, co největšího obsahu THC. Tento směr se ale během posledních let převrátil ve prospěch narůstajícího obsahu CBD, po jehož léčebných účincích výrazně stoupá poptávka. Přesto i THC má své významné terapeutické vlastnosti – pomáhá od nevolnosti, bolestí (Vallée et al., 2021), stimuluje chuť k jídlu a vykazuje i protinádorový potenciál (Bernstein et al., 2019a).

Kanabidiol (CBD) je druhý nejčastěji se v konopí vyskytující kanabinoid. Právě on získává více pozornosti odborníků než THC. Jednak proto, že není psychoaktivní tak jako THC a také proto, že se v posledních letech daří odkrývat stále více léčebných účinků, jako např. analgetické (Lee et al., 2018), protizánětlivé (Gallily et al., 2018), antiepileptické (Suraev et al., 2017), anebo neuroprotektivní vlastnosti.

Mezi další známé, ale z hlediska medicínského využití málo prozkoumané kanabinoidy patří např. tetrahydrokanabivarin (THCV), kanabinol (CBN), kanabigerol (CBG) anebo kanabichromen (CBC).

Obsah kanabiodů v léčebném konopí je dán mnoha faktory. V první řadě existují rozdíly u jednotlivých druhů konopí, tj, konopí setého a indického, ale dále také mezi jednotlivými kultivary (Welling et al., 2016). Šlechtění a výběr kultivarů se řídil požadavkem na zvyšování obsahu vybraných kanabinoidů. Jestliže v předcházejících desetiletích byl trend na hledání kultivarů s vysokým obsahem THC, které se pěstovaly za účelem výroby drog. Dnešní trend je ve velké míře zaměřen na hledání kultivarů s nízkým obsahem THC, ale naopak vyšším obsahem CBD.



Obr. 3. Tetrahydrokanabinol (nahore) a kanabidiol (dole).

3.1.5 Distribuce kanabinoidů v rostlinách konopí

Koncentrace kanabinoidů není v jednotlivých částech rostlin konopí stejná. Koncentrace je odlišná v různých typech tkání rostlin a mění se také se stářím, odrůdou, podmínkami růstu (výživa, vlhkost, úroveň osvětlení) (Malík et al., 2021), dobou sklizně a podmínkami skladování (Andre et al., 2016). Často se také obsah kanabinoidů liší mezi jednotlivými rostlinami v rámci jedné populace (Mechtler et al., 2004).

Pate (1994) zjistil vyšší obsah kanabinoidů v samičích rostlinách než samčích. Pacifico et al. (2008) pozorovali nejvyšší obsah v nejvýše posazených listech. Obsah kanabinoidů ve stonku je málo prozkoumaný, neboť existuje jen málo studií zkoumajících obsah v této části rostlin.

Obsah kanabinoidů v rostlinách konopí se mění v průběhu různých růstových fází rostlin konopí (Pacifico et al., 2008). Kolísání obsahu kanabinoidů souvisí také s fází vývoje rostlin. Nejnížší je u semenáčků, nejvyšší před květem, a poté klesá na střední úroveň až do fyziologické zralosti. Obsah kanabinoidů je nejvyšší v květech a dále jejich obsah klesá v

listech, řapících, stoncích, semenech a kořenech. Pacifico et al. (2008) také prokázali, že obsah kanabinoidů v listech klesá s věkem.

3.1.6 Tvorba biomasy a spektrum kanabinoidů

Obsah kanabinoidů, stejně tak jako celkový výnos biomasy a obsah prvků (živin) v jednotlivých částech rostlin, je ovlivněn podmínkami při pěstování. Mezi základní faktory lze jmenovat délku a intenzitu svitu (Mahlberg a Hemphill, 1983; Amrein et al., 2020), závlahu, teplotu (De Prato et al., 2022) a samozřejmě výživu rostlin během celé doby pěstování. S ohledem na to, že je léčebné konopí pěstováno obvykle ve stabilních podmínkách ve sklenících či růstových komorách, je právě různá úroveň výživy výrazným faktorem. Stejně tak výživa rostlin ovlivňuje celkový výnos biomasy a obsah prvků (živin) v jednotlivých částech rostlin. Je ale důležité si také uvědomit, že obsah přijímaných živin je odlišný u různých kultivarů konopí (Kalinowski et al., 2020).

Studie, které se zabývají sledováním vlivů působení živin, jsou v naprosté většině postaveny na pěstování rostlin v rámci hydroponických systémů, kde lze snáze kontrolovat obsah dodávaných živin než v půdě, která je mnohem komplexnější.

Ačkoli se obvykle klade důraz na dostupnost dostatečného množství hlavních živin, objevují se i studie řešící potenciální biostimulační úlohu doplňků živin, jako jsou například huminové látky (Bernstein et al., 2019b).

3.2 Minerální výživa rostlin

Jak bylo uvedeno, živiny hrají významnou roli v rámci produkce léčebného konopí a obsahu kanabinoidů v něm obsažených (Pate, 1994). V základní rovině lze minerální výživu rostlin rozdělit na makroživiny a mikroživiny. Mezi makroživiny se řadí N, K, P, S, Ca a Mg. Obsah makroprvků dosahuje v tkáních rostlin desetiny až desítky procent. Mikroprvky jsou Fe, B, Mn, Cu, Zn a Mo a jejich obsah dosahuje v rostlinách tisícín až setin procent.

Růst a vývoj rostlin do značné míry závisí právě na kombinaci a koncentraci minerálních dostupných živin. Získávání dostatečného množství těchto živin je důležité pro splnění požadavků základních metabolických a buněčných procesů (Kumar et al., 2021).

3.2.1 Význam mikroprvků

Mikroživiny jsou nepostradatelné pro růst a vývoj rostlin, ačkoli jsou přijímány v relativně malém množství. Na rozdíl od makroživin nejsou výchozím materiálem pro stavbu rostlinného těla, mají však nezastupitelnou úlohu v metabolismu rostlin. Účastní se především metabolických procesů, které jsou regulovány a kontrolovány širokou škálou enzymů. Tyto enzymy mají často ve svých strukturách zabudovány stopové prvky jako součást tzv. aktivních center. Mikroživiny také mohou působit jako aktivátory nebo inhibitory vybraných biochemických reakcí. Nedostatečný příjem mikroživin může vést ke stresu rostlin a snížení jejich růstu, naopak nadbytek je zpravidla pro rostliny toxický (Kumar et al., 2021).

Železo (Fe)

U rostlin je železo důležité pro mnoho procesů, mezi nimiž je nejvýznamnější fotosyntéza. V ní se podílí na přenosu elektronů prostřednictvím reverzibilních redoxních reakcí, při nichž dochází k cyklickému střídání Fe^{2+} a Fe^{3+} . Nedostatečný příjem Fe vede k symptomům nedostatku Fe, jako je chloróza listů a snížení vzrůstu rostlin. Rostliny potřebují k dosažení optimálního růstu udržovat koncentraci Fe v živném roztoku v rozmezí 10^{-9} - 10^{-4} mol.l⁻¹. Příjem železa rostlinami je náročný vzhledem k nízké rozpustnosti Fe v půdním roztoku. Rostliny získávají Fe především prostřednictvím rhizosféry. Přestože je Fe jedním z nejrozšířenějších kovů v zemské kůře, jeho dostupnost pro kořeny rostlin je velmi nízká. V přirozeném prostředí je dostupnost Fe dána redoxním potenciálem půdy a pH. V půdách, které jsou aerobní nebo mají vyšší pH, se Fe snadno oxiduje a je převážně ve formě nerozpustných oxidů železa. Při nižším pH se železo uvolňuje z oxidů a stává se dostupnějším pro příjem kořeny (Sun et al., 2007).

V hydroponických roztocích jsou důležité formy Fe vázané v chelátech (kyseliny ethylendiamintetraoctové - EDTA, kyseliny diethylentriaminpentaoctové – DTPA a kyseliny ethylenediamindihydroxyphenyloctové - EDDHA). Chelatické vazby zabraňují snadné oxidaci Fe a jeho přeměně na nerozpustné formy, které nemohou být absorbovány rostlinami (Lykas et al., 2001). Stabilitu chelátů ovlivňuje pH roztoku (Klem-Marciniak et al., 2021), složení roztoku i další faktory. Právě pH ovlivňuje volbu vhodných chelátů pro živné roztoky. FeEDTA a FeDTPA jsou stabilní do pH 6,5, zatímco FeEDDHA se používá tam, kde je pH nad 7,0.

Negativní vliv na stabilitu chelátů má světlo, které způsobuje jejich rozklad a tím i snížení dostupnosti Fe pro rostliny (Lykas et al., 2001). Snížení dostupnosti může být způsobeno i

antagonistickým působením dalších prvků – Cu, Ni, Co, Zn, Cr nebo Mn (Richter a Hlušek, 1994), nebo Mg a Ca. Příjem Fe může také ovlivňovat množství fosforu v roztoku. Nízký obsah fosforu zlepšuje příjem Fe a naopak (Xie et al., 2019).

Důležitým znakem Fe je jeho velmi omezený pohyb v rostlinách. Nedostatek přístupného železa se projevuje různými symptomy (Obr. 4). Časté projevy zahrnují chlorózy. Z důvodu malé pohyblivosti v rostlinách se příznaky deficiencie objevují u mladých listů, zatímco starší listy a tkáň jsou zelené. Může také docházet ke změnám v morfologii kořenů rostlin. Stejně jako nedostatek železa je pro rostliny nežádoucí jeho nadbytek, který pak působí toxicky. Princip toxicity je dán produkcí hydroxylového radikálu v buňkách, který může poškodit většinu jejich složek, jako je DNA, proteiny, lipidy a cukry. Příjem Fe v rostlinách je proto přísně regulován, aby se zabránilo jeho nadměrné akumulaci (Rout, 2015).



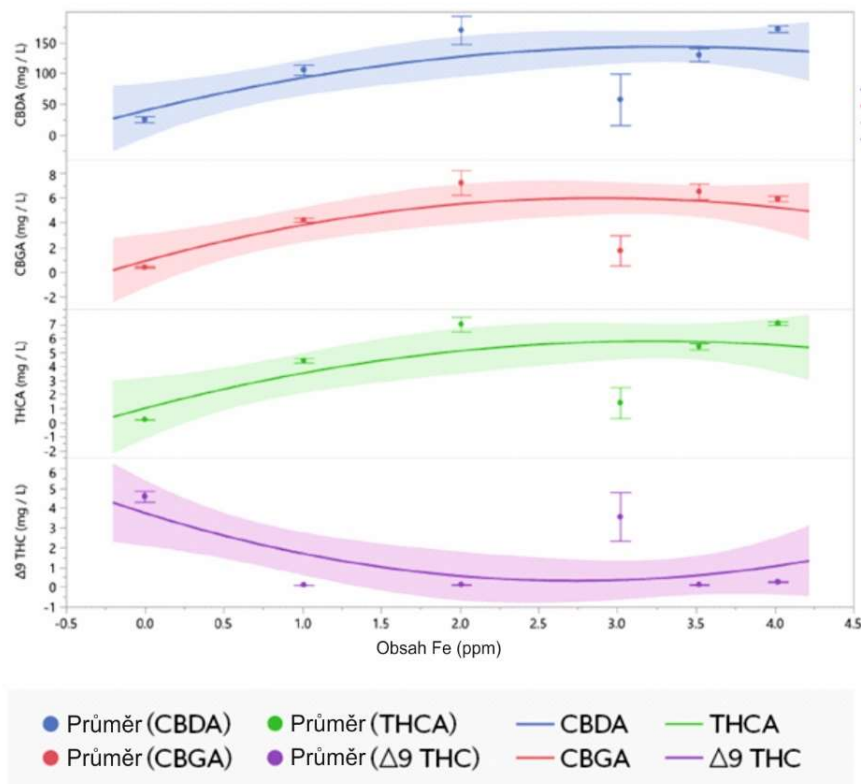
Obr. 4. Chloróza způsobená deficiencí železa (Zdroj: <https://www.semena-marihuany.cz/sk/blog/185-najcastejsie-problemy-zacinajucich-pestovatelov>)

Poznatků o vlivu železa na růst konopí není ve vědecké literatuře příliš mnoho. Cockson et al. (2019) zjistili, že při použití pěstebního roztoku bez Fe se objevily příznaky intervenální chlorózy horních listů po 9 týdnech. Listy byly ve srovnání s kontrolními rostlinami světlejší a příznaky se rozšířily po celé horní polovině listů, zejména v okolí rostoucí špičky a nově se rozvíjejících listů. Příznaky stresu z nedostatku Fe začínaly jako mírné okrajové žloutnutí listů, zejména v okolí báze listu. Koncentrace Fe v listech byly u rostlin vystavených podmínkám s nedostatkem Fe o 46 % nižší ve srovnání s rostlinami z kontroly. Rostliny zalévané roztokem s nedostatkem Fe obsahovaly 60,08 mg.kg⁻¹ Fe, zatímco kontrolní rostliny obsahovaly 111,75 mg.kg⁻¹.

V další studii Cockson et al. (2021) zkoumali vliv obsahu Fe v živném roztoku na růst nadzemních částí rostlin, akumulaci živin v listových tkáních a obsah kanabinoidů (Obr. 5).

Experiment zahrnoval šest úrovní koncentrace Fe (0, 1, 2, 3, 3,5 a 4 ppm) v hydroponickém roztoku. Produkce celkové biomasy byla maximální na počátku produkčního cyklu (první 4 týdny po přesazení) při nejvyšší koncentraci železa (4 ppm). Po dosažení fáze kvetení nebyl v množství biomasy pozorován průkazný rozdíl. Při analýze kanabinoidů (CBDA, CBGA, THCA, delta-9-THC) nebyl pozorován žádný jasný trend mezi jednotlivými variantami množství Fe (Obr. 5). Naopak Radosavljevic-Stevanovic et al. (2014) našli negativní korelaci mezi obsahem Fe a množstvím CBD a zároveň pozitivní korelaci s THC.

Obsah železa v listech konopí studovali také Wogiatzi et al. (2019). Výsledky studie ukázaly, že neexistuje statisticky průkazný obsah železa mezi různými variantami závlivky a úrovní hnojení dusíkem. Celkový obsah Fe kolísal mezi 129,0 – 139,8 mg.kg⁻¹ sušiny.



Obr. 5. Obsah kanabinoidů při různé úrovni koncentrace Fe v hydroponickém roztoku. Vysvětlivky: CBDA - kyselina kanabidiolová, CBGA - kyselina kanabigerolová, THCA – kyselina tetrahydrokanabinolová, Δ-9-THC - delta-9-tetrahydrokanabinol. (Převzato z: Cockson et al., 2021).

Bór (B)

Bór má klíčovou roli v rozmanité škále funkcí rostlin. Jeho nadbytek nebo nedostatek může ovlivnit růst a produkci rostlin. Pro bór je charakteristické, že rostliny vyžadují jeho specifické množství. Jinými slovy, v systémech půda-rostlina existuje malé rozmezí koncentrací mezi nedostatkem a toxicitou B (Blevins a Lukaszewski, 1998). Bór se podílí na stavbě a struktuře buněčných stěn a příjmu vápníku. Existuje podobnost mezi vývojem kostí u živočichů a vývojem buněčných stěn u rostlin. Například syndrom tzv. „dutého srdce“ u podzemnice olejné se vyskytuje, pokud nedostatek B omezuje pohyb Ca, a tím narušuje normální vývoj buněčné stěny a dělení buněk. Bór je nezbytný v růstových částech rostlin, jako jsou kořenové špičky, nové listy a pupeny. Jde o meristematická (rostoucí) pletiva rostlin nebo buňky, které se rychle množí a umožňují růst rostlin. Nedostatek bóru se nejčastěji projevuje změnou struktury rostlin v těchto oblastech. Bór také zajišťuje tvorbu zásobních tkání rostlin a vodivých tkání pro transport vody, živin a organických sloučenin do aktivně rostoucích částí rostlin. Potřeba bóru je u většiny rostlinných druhů mnohem vyšší pro růst reprodukčních orgánů než vegetativních. Bór zvyšuje tvorbu, je zodpovědný za prodlužování a klíčení pylových trubic a také vývoj semen a plodů. (Seeda et al., 2017)

Při nedostatku bóru byla prokázána snížená produkce biomasy u léčebného konopí (Cockson et al., 2019). Deficience B se projevila po 6 týdnech od založení pokusu. Symptomy nedostatku se projevily zpočátku mírným zakrtněním špiček rostlin a následně i listů. U pokročilých příznaků vykazovaly nové listy silnou deformaci a nekrotizaci u okraje listů. V nejpokročilejších stádiích odumíraly a nekrotizovaly rostoucí špičky a celá rostlina vykazovala silné chřadnutí v důsledku odumírání kořenových špiček a následného úbytku kořenové biomasy. Koncentrace B v listech byly u rostlin s B-deficientem o 96 % nižší než u kontrol. Koncentrace B v rostlinách konopí byla pouze 2,46 mg.kg⁻¹, zatímco u kontrolní varianty 58,58 mg.kg⁻¹. Varianta simulující silný nadbytek B (10x vyšší koncentrace roztoku, než kontrolní varianta) přinesla znaky projevu toxicity, ale nedošlo k statisticky průkaznému snížení množství biomasy (Cockson et al., 2019).

Mangan (Mn)

Mangan (Mn) plní dvě různé funkce: působí jako kofaktor enzymů a uplatňuje se jako kov s katalytickou aktivitou v biologických klastrech. (Andersen et al., 2018). Mangan v rámci těchto funkcí tak vstupuje do různých procesů životního cyklu rostlin, jako je fotosyntéza, dýchání, obrana proti patogenům a hormonální signalizace (Alejandro et al., 2020).

Nedostatek manganu podstatně zhoršuje fotosyntézu. Negativní vliv nedostatku Mn na fotosyntézu má za následek výrazné snížení koncentrací rozpustných cukrů v různých částech rostlin. Obecně se má za to, že snížení fotosyntézy je hlavní příčinou poklesu produkce sušiny a výnosu v případě nedostatku Mn (Pedas et al., 2008). Kritická koncentrace Mn indukující jeho nedostatek je uváděna v případě poklesu pod 10-20 mg.kg⁻¹ sušiny (Nieves-Cordones et al., 2020). Projevy nedostatku Mn mohou být nevýrazné, při vyšším nedostatku dochází k barevným změnám na mladých listech (důsledek omezeného transportu Mn v rostlinách) a případně i změny na kořenovém vlášení (v extrémním případě vedoucí až k nekrotám) (Yamaji et al., 2013).

Nedostatek manganu u léčebného konopí se projevuje formou jasně žlutých síťovitých chloróz na horních a středních listech (Cockson et al., 2019). Chlorotické síťování začíná na středním žeburu listů a s postupujícími příznaky se šíří směrem ven k okrajům listů. U pokročilých symptomů se intervenální síťování stalo velmi výrazným proti zeleným oblastem listů. Nedostatek Mn nemusí automaticky vést k prokazatelnému snížení produkce biomasy (Cockson et al., 2019). Deficit se však zřetelně projevuje snížením obsahu Mn v rostlinách, a to i o 74 % oproti kontrole. Rostliny s deficitem obsahovaly pouze 7,56 mg.kg⁻¹, oproti kontrolní variantě s koncentrací 29,40 mg.kg⁻¹. Varianta simulující toxické koncentrace přinesla obdobné výsledky jako u bóru, kdy se zvýšila koncentrace prvku v rostlinách, došlo k morfologickým projevům toxicity, ale množství biomasy neprokázalo statisticky průkazné snížení.

Množství a distribuce Mn v rostlinách konopí se může lišit v závislosti na interakci s obsahem jiných prvků, např. P (Shiponi a Bernstein, 2021). Existují však jiné závislosti pro jiné části rostlin. Shiponi a Bernstein (2021) zjistili, že koncentrace v listech konopí se zvyšovala s vyšší dávkou fosforu, neplatilo to však pro stonek a květy rostliny. Wogiatzi et al. (2019) zjistili v rámci polního pokusu souvislost mezi obsahem Mn a množstvím dostupné vody pro rostliny a dávkou makroživin. Nejnižší koncentrace Mn (42,6 mg.kg⁻¹ sušiny) byla zjištěna při plné dávce závlahy a vyšší aplikační dávce makroživin (244 kg N, 60 kg P₂O₅ a 60 kg K₂O/ha, oproti variantě s plnou dávkou závlahy, ale nižším obsahem N (184 kg N, 60 kg P₂O₅ a 60 kg K₂O/ha), kdy koncentrace dosáhla 56,2 mg.kg⁻¹ sušiny. Stejný trend v rozdílu u popsáných variant byl zjištěn i u mědi, kdy koncentrace v sušině listů konopí dosáhly 4,78 respektive 6,96 mg.kg⁻¹.

Měď (Cu)

Stejně jako ostatní mikroprvky, se měď uplatňuje v mnoha procesech v růstu rostlin. Měď je nepostradatelná ve fotosyntetických a respiračních řetězcích přenosu elektronů, v detekci ethylenu, v přenosu energie a v metabolismu buněčných stěn vyšších rostlin (Yruela, 2009). Měď hraje také roli v signalizaci transkripce a mechanismu přenosu proteinů, mobilizaci železa a oxidační fosforylaci na buněčné úrovni (Yruela, 2005).

Stejně jako u jiných mikroživin platí, že vyšší koncentrace může být stresovým faktorem, který inhibuje růst rostlin. Důvodem je narušení struktury a inhibice aktivity proteinů (Morelli a Scarano, 2004).

U konopí byla deficiencie mědi popsána po 9 týdnech po zahájení pokusu, v podobě mírného omezení růstu listů. Toto zakrnutí bylo doprovázeno mírnou deformací nových listů, zejména jejich bází, které zároveň vykazovaly mírné žloutnutí. Pokročilejší příznaky se u nových rozvíjejících se listů projevují jako výraznější deformace listů spolu s chlorózami. V nejpokročilejších stádiích vykazoval celý list finální intervenální chlorózu a okraj listu se deformoval. Deficiencie ve výživě mědi se projevuje snížením její koncentrace v rostlinách konopí. Cockson et al. (2019) zjistili pokles o 70 %. Koncentrace poklesly na $1,41 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ Cu}$ oproti kontrole, kdy rostliny obsahovaly $4,65 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ Cu}$. Stejná studie prokázala také výrazný vliv Cu na tvorbu biomasy. Rostliny pěstované v podmínkách s nízkým obsahem Cu produkovaly o 45 % méně biomasy ve srovnání s kontrolou.

Vliv zvýšené koncentrace mědi na růst kořenů konopí setého byl zkoumán v rámci studie (Bona et al., 2007). Byla porovnávána varianta s 150 ppm $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ v roztoku s variantou bez přídavku Cu. Výsledky ukázaly relativně značnou toleranci k takto vysoké dávce mědi. V rámci studie byla zjištěna skupina proteinů, které se podílejí na adaptaci rostlin proti chronickému stresu způsobenému vyšší koncentrací mědi.

Arru et al. (2004) zkoumali lokalizace mědi v konopí pěstovaném v hydroponické kultuře bohaté na měď. Pomocí elektronové mikroskopie v kombinaci s rentgenovou mikroanalýzou bylo zjištěno, že se Cu přednostně hromadí v horních epidermálních buňkách listů a v abaxiálních trichomech.

Zinek (Zn)

Zinek je důležitou součástí různých enzymů, které jsou zodpovědné za mnoho metabolických reakcí ve všech plodinách. Zinek je také začleněn jako složka proteidů a metaloproteidů a dalších makromolekul. Zinek jakožto složka proteinů, působí jako funkční, strukturální nebo regulační kofaktor velkého množství enzymů. Bez přítomnosti specifických

enzymů v rostlinných tkáních by se růst a vývoj zastavil. Nedostatkem zinku je u rostlin výrazně snížena tvorba sacharidů, bílkovin a chlorofylu (Kawachi et al., 2009). Nedostatek zinku může v závislosti na druhu rostliny a závažnosti nedostatku způsobit snížení čisté fotosyntézy o 50 % až 70 % (Rudani et al., 2018). Při mírné deficienci zinku dochází k snížení výnosů, aniž by se objevily zjevné příznaky (Alloway, 2009). Výrazná deficiencie zinku se projevuje chlorózami. Chloróza při nedostatku zinku obvykle postihuje bázi listu v blízkosti stonku. Chloróza se nejprve objevuje na spodních listech a postupně se přesouvá vzhůru po rostlině.

Příjem zinku je u rostlin zajištěn různými mechanismy. U dvouděložných rostlin je založený na redukcii, kde jsou vyšší oxidační stavy kovu redukovány na nižší oxidační stav předtím, než jsou transportovány do buňky jejím specifickým transportérem přítomným na membráně kořenné buňky (Sharma et al., 2013).

Koncentrace zinku byla u dvou odrůd konopí pěstovaných v roztoku s různou koncentrací fosforu ve všech variantách (5, 15, 30, 60 a 90 ppm P) prokazatelně vyšší v kořenech a květenstvích ve srovnání se všemi ostatními rostlinnými orgány (Shiponi a Bernstein, 2021). Nejvyšší koncentrace v kořenech byla zaznamenána u roztoku s nejnižší koncentrací P.

Deficiencie zinku se projevuje chlorózami, které postihují okrajové části mladých listů. Při hlubší deficienci zinku dochází k rozvoji nekrotizace na listech. Snížení množství Zn ve výživě vede k poklesu obsahu Zn v tkáních konopí. Cockson et al. (2019) zaznamenali snížení koncentrace Zn v listech o 58 % ve srovnání s kontrolou. Rostliny pěstované bez přísunu Zn obsahovaly pouze 10,70 mg.kg⁻¹ Zn, zatímco rostliny kontrolní varianty 25,33 mg.kg⁻¹. Snížení celkové produkce biomasy nebylo prokázáno.

Molybden (Mo)

Molybden je pro rostliny nezbytný z důvodu jeho přítomnosti v řadě enzymů. Molybden je využíván vybranými enzymy k uskutečňování redoxních reakcí. Mezi enzymy, které ke své činnosti potřebují molybden, patří nitrátreduktáza, xantindehydrogenáza, aldehydoxidáza a siřičitanoxidáza (Brent et al., 2005).

Nedostatek molybdenu u rostlin způsobuje různé morfologické změny, jako jsou skvrny na listech a změna tvarů listů. Známé je také vyslepnutí kvěťáku nebo růstové poruchy dalších košťálových zelenin.

Molybden je nadzemních částech rostlin značně pohyblivý. V rámci pokusů s izotopem ⁹⁹Mo bylo objeveno (Richter, 2004), že se Mo nejdříve dostává do starších listů, ale následně se přesouvá a koncentruje v listech mladých.

Kaiser et al. (2005) zjistili, že při aplikaci molybdenanu pouze na listy dochází k transportu také směrem dolů do stonku a kořenů, což dokazuje, že molybdenan je vysoce mobilní sloučenina přemísťovaná mezi různými rostlinnými pletivy. Mo se hromadí hlavně ve vegetativních částech rostliny (kořenech). K jeho transportu dochází v rostlinách i v rámci různých růstových fází. Nejdříve se dostává do starších listů, ale poté se koncentruje v mladých listech. Ve fázi dozrávání se obsah Mo snižuje v listech a naopak stoupá v reprodukčních orgánech.

Deficience Mo nemusí nutně vést k symptomům pozorovatelných na rostlinách konopí. Cockson et al. (2019) nezaznamenali takové symptomy ani po 9 týdnech od založení pokusu, přestože koncentrace Mo byla v listech o 96 % nižší oproti kontrole (snížení na $0,06 \text{ mg.kg}^{-1}$ Mo, oproti kontrole s koncentrací $1,46 \text{ mg.kg}^{-1}$ Mo). Stejná studie přinesla zjištění, že při nedostatku Mo nedošlo ke statisticky průkaznému snížení produkce biomasy.

3.3 Hydroponické pěstování

S ohledem na rozšiřující se uplatnění léčebného konopí, je potřeba stále většího množství znalostí o působení růstových podmínek na jeho produkci a obsah účinných látek. Důležitým požadavkem je také stabilita obsahu těchto látek v rámci dlouhodobé produkce (Pusiak et al., 2021).

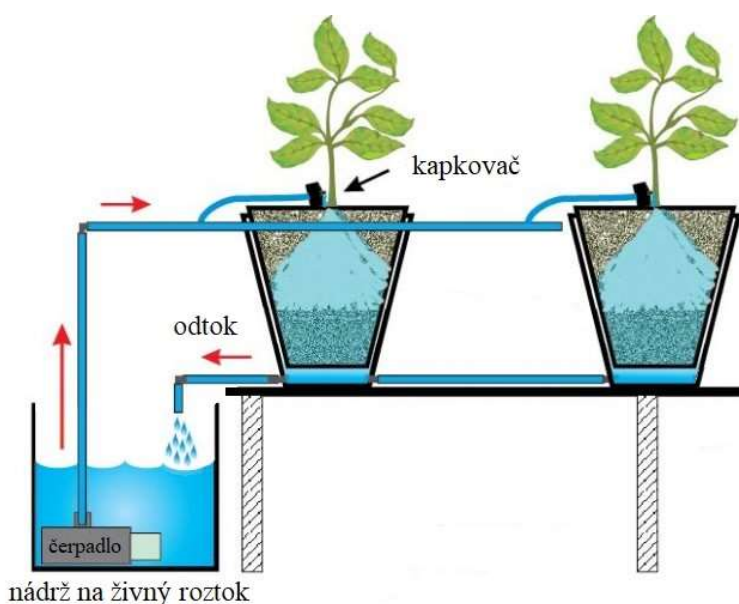
Při tradičním pěstování rostlin v půdách je často velmi složité dodržet konstantní podmínky a poskytovat rostlinám stálý přísun živin. Je to dáno komplexností půdního prostředí z hlediska fyzikálních, chemických a biologických vlastností. Mění se podmínky v půdním prostředí jsou dány vlastnostmi jako je sorpční komplex, struktura půdy nebo složení edafonu a jeho biologická aktivita. Z tohoto důvodu se často studium vlivu různých pěstebních podmínek na produkci léčebného konopí a obsahu kanabinoidů soustřeďuje na hydroponické pěstování v uzavřených prostorech (sklenících, či pěstebních boxech) (Knight et al., 2010; Yep a Zheng, 2020; Velechovský et al., 2020). V nich je možné udržet konstantní prostředí, jak z hlediska světelných, teplotních a vlhkostních podmínek, tak především z hlediska dodávání živin.

V hydroponických systémech se uplatňují dva základní přístupy lišící se zacházením s živným roztokem. Jeden z přístupů je založen na přísunu stále nového roztoku a přebytek se

odvádí do odpadu (v anglické literatuře označovaný jako „drain to waste“). Druhý je pak založen na recirkulaci roztoku, a jeho doplňování.

3.3.1 Recirkulační hydroponický systém

V recirkulačním systému se živný roztok čerpá ze zásobníku ke kořenům rostlin. Přebytečný roztok je odváděn zpět do zásobníku. To umožňuje opakované použití živného roztoku, dokud není vyčerpán. Poté se živný roztok doplňuje, či nahrazuje novým. V rámci recirkulačních systémů existuje několik subtypů lišících se ve způsobu cirkulace roztoku a doplňování živin do systému.



Obr. 6. Příklad recirkulačního hydroponického systému (Zdroj:

<https://www.floramax.com/guide-to-hydroponic-system-design-recirculating-or-run-to-waste/>) (upraveno)

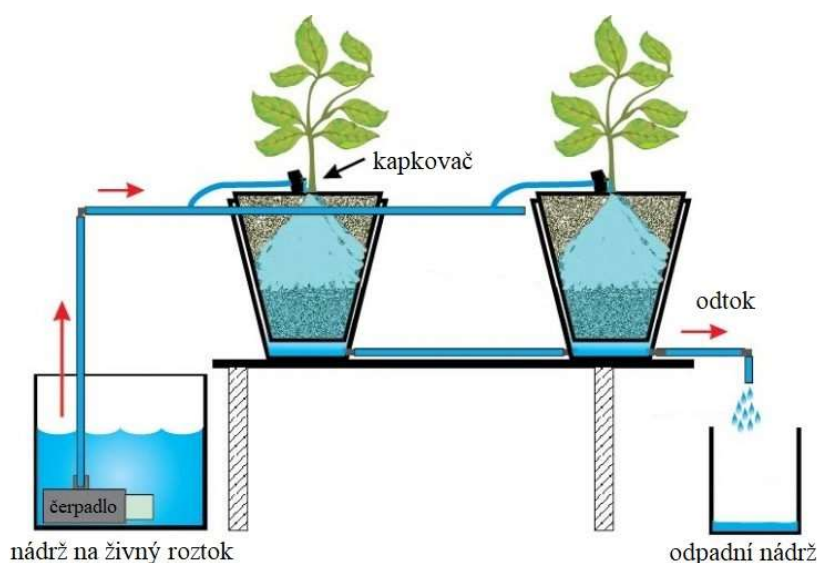
Nevýhodou tohoto typu hydroponie je opakované používání roztoku, které může vést k většímu tlaku patogenů na rostliny z důvodu jejich možného namnožení v uzavřeném systému. Daný systém vyžaduje větší pozornost v jeho udržování, aby nedocházelo k již zmiňovaným problémům s patogeny, a také aby byla udržována správná koncentrace živin v roztoku a nedocházelo ke kolísání pH a vodivosti výživného roztoku. Výhodou je pak šetření vodou a živinami obsaženými v odváděném roztoku.

3.3.2 „Drain to waste“ hydroponický systém

Jak bylo v úvodu kapitoly uvedeno, je tento systém založen na odvodu přebytku použitého hydroponického roztoku do odpadu (Obr. 7). Při dobře založeném systému dochází z odvodu pouze malé části (10 - 15 %) hydroponického roztoku. Tento systém má oproti recirkulačnímu systému mnoho výhod.

Jednou z uváděných výhod je zamezení problémů spojených s chorobami kořenů. V případě recirkulace roztoku existuje nebezpečí namnožení patogenů, a jejich šíření do celého pěstebního systému. V systému „drain to waste“ je toto riziko eliminováno a rostliny jsou tak vystaveny menšímu tlaku patogenů.

Choroby se zpravidla začínají šířit z jedné (obvykle nejslabší) rostliny. V recirkulačním systému spory vytvořené z této jedné rostliny odtékají a shromažďují se v hlavní nádrži a následně při další zálivce infikují všechny rostliny. U systému "drain to waste" k tomu nemůže dojít, protože veškerá voda opouštějící danou rostlinu odchází do kanalizace, a nikoli zpět do hlavní nádrže, proto žádné spory nemohou nádrž infikovat.



Obr. 7. Příklad „drain-to-waste“ hydroponického systému (Zdroj:

<https://www.floramax.com/guide-to-hydroponic-system-design-recirculating-or-run-to-waste/>).

Další výhodou tohoto systému je stálost obsahu dodávaných živin. Tím, že je dodáván stále čerstvý roztok, je zaručen přístup živin v požadované konstantní koncentraci. Další uváděnou výhodou je i větší stabilita pH roztoku.

Z výše uvedených důvodů je právě tento systém nejčastěji používán jak v rámci výzkumných studií, tak i vlastního komerčního pěstování léčebného konopí.

4 Metodika

4.1 Hydroponický experiment

4.1.1 Základní design pěstebního experimentu

Experiment byl založen v pěstebním prostoru, tzv. indoor pěstírně s podlažní plochou 85 m² v pavilonu B, Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze. Pěstírna se skládá ze 4 samostatných pěstebních místností o rozloze 3 x 5 m (15 m²). Prostor pro vlastní kultivaci je v každé místnosti vymezen 4 pěstebními stoly, o ploše 2 m² (rozměr 1 x 2 m), celkem tedy zaujímá 8 m². Každý stůl lze osadit 55 květináči o jednotlivém objemu 3,7 litru. Každý stůl tvoří unikátní výživovou variantu pokusu se samostatnou plastovou nádrží s živným roztokem o objemu až 100 litrů.

4.1.2 Závlaha a výživa

Rostlinná závlaha je obstarávána kapilárami umístěnými do květináčů ke každé rostlině samostatně. V období kultivace je časovačem nastaveno 9 závlahových cyklů o délce 60 sekund během každých 24 hodin. V rámci jednoho cyklu je k rostlině dodáno 94 ml živného roztoku, celkem tedy 846 ml/rostlinu/den. Čerstvý živný roztok je připravován z přívodu demineralizované vody.

Systém pěstebních stolů umožňuje dle potřeby zvolit buďto recirkulaci živného roztoku, nebo metodu „drain to waste“, tedy možnost odvodu odpadního roztoku do druhé nádrže a zamezení jeho smíchání s výchozím živným roztokem.

V rámci experimentu byly použity dva systémy výživy. První varianta (1C) využívala recirkulačního systému, druhá (2C) systému „drain to waste“. Živný roztok, s různou koncentrací živin pro odlišné etapy pěstování, byl podáván u obou variant devět týdnů, po zbytek pěstebního období byly rostliny konopí obou variant zalévány jen demineralizovanou vodou. V rámci varianty 1C byl živný roztok obnovován v 7 denním cyklu od založení. V obou případech bylo pH živného roztoku nastaveno na 5,9. U cirkulačního systému se pH roztoku korigovalo na tuto hodnotu každých 24 hodin. Složení roztoku je uvedeno v tabulce 1.

Tabulka 1. Složení hydroponického roztoku (mg/L) a jeho dávkování v jednotlivých týdnech experimentu

Prvek	Týden				
	1	2	3,5	4, 6-9	10-13
N	100.85±1.64	116.00±1.85	130.00±1.75	150.00±1.92	DV
P	32.01±0.75	39.40±0.82	43.88±0.59	51.73±0.79	DV
K	124.93±1.85	151.00±1.38	173.11±1.92	193.25±1.58	DV
Ca	98.53±1.32	119.00±1.35	132.38±1.42	146.00±1.28	DV
Mg	25.17±0.38	30.50±0.42	34.94±0.48	39.13±0.45	DV
S	21.75±0.25	26.72±0.29	31.34±0.34	34.53±0.38	DV
Fe	0.91±0.09	1.11±0.09	1.21±0.11	1.44±0.08	DV
Mn	0.66±0.07	0.74±0.05	0.83±0.08	0.99±0.07	DV
Zn	0.21±0.03	0.27±0.03	0.28±0.04	0.33±0.03	DV
Cu	0.07±0.01	0.09±0.01	0.11±0.01	0.13±0.02	DV
B	0.14±0.02	0.19±0.01	0.22±0.02	0.25±0.02	DV
Mo	0.01±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	DV
EC	0.97±0.01	1.19±0.01	1.46±0.01	1.74±0.01	DV

EC - elektrická vodivost; DV - demineralizovaná voda

4.1.3 Mikroklima

Mikroklima bylo řízeno vzduchotechnickou jednotkou udržující nastavené parametry relativní vzdušné vlhkosti, teploty a koncentrace CO₂. Relativní vzdušná vlhkost je při kultivaci udržována na 40 %, koncentrace CO₂ okolo 550 ppm (1065 mg.m⁻³). Teplota je v průběhu celého vegetačního cyklu udržována na 25 °C během denní (světelné) fáze a při noční (temné) fázi je snížena na 22 °C.

4.1.4 Osvětlení

Světelný režim je v každé místnosti zajištěn šesti vysokotlakými sodíkovými (HPS) výbojkami o jmenovitém výkonu 1000 W, které pro rostliny zajišťují plné světelné spektrum. Při výkonu 6000 W poskytují výbojky na základě přepočtu na hustotu fotosynteticky aktivních fotonů (PPFD) 1029 μmol/m²/s pro celou místnost. Výkon světla je možné nastavovat od 60 % do 120 % základního výkonu (1000 W). Světelný režim je též pro kontrolu v minutovém kroku zaznamenáván pomocí dataloggeru.

4.1.5 Rostlinný materiál

Uniformní rostlinný materiál pro experiment pochází z matečních rostlin léčebného konopí genotypu s pracovním názvem „McLove“. Rostliny se řadí do chemotypu vyznačujícího se výraznou převahou THCA nad CBDA (THCA/CBDA poměr $\gg 1,0$). Rostliny použité pro experiment byly vypěstovány z řízků z jedné mateční rostliny. Příslušné mateční rostliny byly udržovány v jedné z pěstebních místností.

Příprava a kultivace

Pro experiment bylo připraveno pomocí vegetativního množení cca 300 odnoží, jež po dobu 3 týdnů koření v sadbovacích kostkách z čedičové vaty o rozměru 4 x 4 cm. Následně je vyselektováno 220 homogenních kusů, které jsou přesazeny do výše zmiňovaných květináčů o objemu 3,7 litru naplněných hydroponickým pěstebním médiem, keramzitem („europebbels“).

Vegetační cyklus rostlin trvá dalších 9 týdnů. Počáteční, vegetativní (růstová) fáze s fotoperiodou „dlouhého dne“ (18 hod světla a 6 hod tmy) trvá první týden. Následující, fáze generativní (květová) s fotoperiodou „krátkého dne“ (12 hod světla a 12 hod tmy) se udržuje zbývajících 8 týdnů.

Vzorkování, uskladnění a homogenizace

V pěstební místnosti jsou rostliny rozděleny na příslušné 4 stoly po maximálně 55 rostlinách. Každý stůl představuje jednu výživovou variantu a je rozdělen na 3 sektory. Rostliny jsou v průběhu celého vegetačního cyklu průběžně odebírány. Ze všech variant (stolů) jsou v závěru týdne vybrány 3 obdobné rostliny, dohromady tedy 12 kusů, vždy každá 1 rostlina z různého sektoru 1-3 daného stolu.

Po odběru se rostliny zbaví kořenů, zváží celé v čerstvém stavu a každá se zvlášť rozdělí na květy, listy a stonky. Tyto části se u všech rostlin zváží samostatně v čerstvém stavu. Květy (listy a květy se do 4. vegetačního týdne analyzují dohromady, jelikož květy nejsou ještě dostatečně utvořeny) se následně usuší v sušárně při 25 °C do konstantní vlhkosti (8-10 %.), takto usušené se znovu váží, vakuují a jsou přesunuty do chladicích boxů s teplotou 4 °C. Listy (od 5. vegetačního týdne) a stonky se suší alespoň 48 hod při 105 °C, poté se také váží, a následně jsou až do analýz skladovány při pokojové teplotě. Těsně před samotnými analýzami se rostlinné části zvlášť homogenizují. Květy (včetně listů do 4. vegetačního týdne) se zmrazí tekutým dusíkem, a následně rozemelou v třecí misce s tloučkem. Část od každého vzorku se

odebere a usuší při 105 °C kvůli stanovení hmotnosti sušiny. Listy (od 5. vegetačního týdne) a stonky se rozemelou v mlýnku.

4.1.6 Stanovení živin v rostlinách konopí

Pro stanovení makro, mikro a stopových prvků (vyjma dusíku) bylo do křemenné kádinky (objem 50 ml) naváženo 0,5 g homogenizované rostlinné části (stonek, list, květ). Rostlinná biomasa byla přikryta hodinovým sklíčkem a umístěna na topnou desku, kde dochází v 60 minutovém kroku k zvyšování teplot na 160 °C, 220 °C, 280 °C a 350 °C a tím k postupnému rozkladu vzorků. V druhé fázi jsou vzorky přemístěny do muflové pece, kde při teplotách 450-500 °C setrvávají dalších 12 hodin. Do vychladnutých kádinek je posléze přidána HNO₃ (1 ml, 65 %). Kádinky jsou umístěny na 60 min na topnou desku o teplotě 120 °C. Vzorky jsou následně žihány v peci při 500 °C (doba žihání 90 min) a za míchání v ultrazvukové lázni převedeny do vodného roztoku HNO₃ (1,5 %). Vlastní měření koncentrace sledovaných prvků je následovně provedeno pomocí atomové absorpční spektrometrie (AAS) a optické emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (ICP-OES) (Hoenig 2003).

4.1.7 Stanovení obsahu kanabinoidů

Extrakce kanabinoidů byla provedena optimalizovanou metodou zvanou „dynamická macerace“ (Brighenti et al. 2017). Extrakce je prováděna z nadrcených a homogenizovaných květů (do 4. vegetačního týdne květů a listů). Vzorek se naváží (0,30 g) do 50 ml kádinek, do kterých se následně přidá 10 ml rozpouštědla (96% ethanolu s čistotou pro UV). Vzorky jsou poté 60 minut macerovány za míchání na magnetické míchačce (300 otáček/minutu). V dalším kroku jsou vzorky za sníženého tlaku zfiltrovány pomocí filtračního zařízení dle Mortona (pórovitost S4/P16) a filtrát je převeden do 50 ml kónických zkumavek. Zbývající biomasa květů se z filtru přenesse zpět do původních kádinek a je k nim znovu přidáno 10 ml stejného rozpouštědla. Tento krok se opakuje celkem třikrát a všechny 3 filtráty z daného vzorku se smíchají. Vzorek květů (0,3 g) je tedy extrahován 30 ml rozpouštědla. Z každého, takto získaného směsného vzorku, je odebráno 0,5 ml filtrátu, který se následně dvacetkrát zředěn. Zředěný filtrát se prefiltruje přes nylonové stříkačkové filtry (0,22 μm) do vialek. V této formě jsou vzorky analyzovány pomocí kapalinové chromatografie - HPLC-DAD. Parametry pro metodu jsou uvedeny v tabulce 2 (Křižman, 2020).

Tabulka 2. Parametry analýzy kanabinoidních látek v konopném extraktu

HPLC-DAD	
Kolona	Luna C18(2) 250 × 3,0 mm; 3 μm
Mobilní fáze	izokratická eluce, acetonitril/H ₂ O (31:9, V/V) s 0,1% HCOOH (V/V) a 10 mmol/L NH ₄ COOH (bez úpravy pH)
Průtoková rychlost	0,55 ml/min
Teplota	37 °C
UV detekce	275 nm
Doba analýzy	25 min
Nástřik	8,0 μL
Externí kalibrace	0,3-10 mg/L (THCA 0,3-100 mg/L)

4.2 Statistické vyhodnocení dat

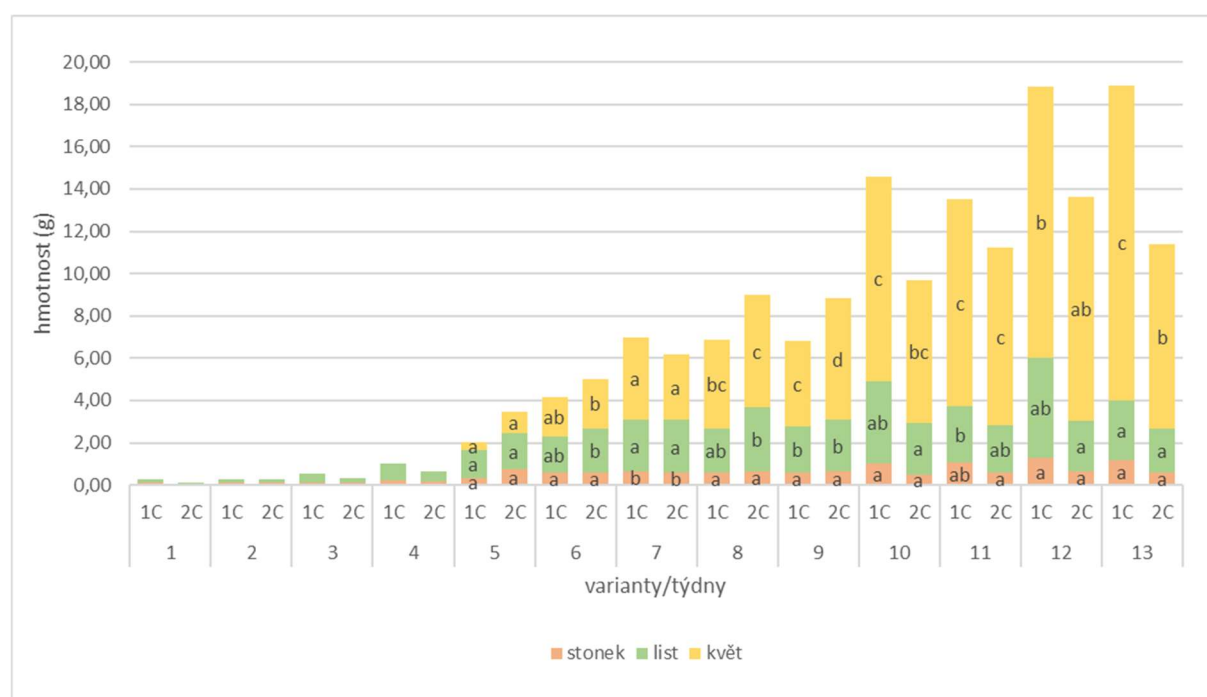
Vyhodnocení vlivu použitého hydroponického systému na koncentraci mikroživin v jednotlivých částech léčebného konopí (stonek, list, květ) a koncentrace THCA v květech bylo provedeno pomocí analýzy ANOVA a Tukeyho HSD testu v prostředí programu Statistica 11. Vyhodnocení výsledků bylo provedeno pouze pro týdny, kde byl dostatečný počet opakování měření, které příslušné statistické analýzy vyžadují.

5 Výsledky

V rámci vegetačního experimentu byl sledován rozdíl ve vyprodukované sušině a obsahu mikroživin v odlišných částech rostlin konopí, tj. stonky, list květ, a rozdíl v koncentracích THCA v jednotlivých týdnech mezi recirkulační hydroponií (varianta 1C) a „drain to waste“ hydroponií (varianta 2C).

5.1 Vliv typu hydroponie na množství sušiny

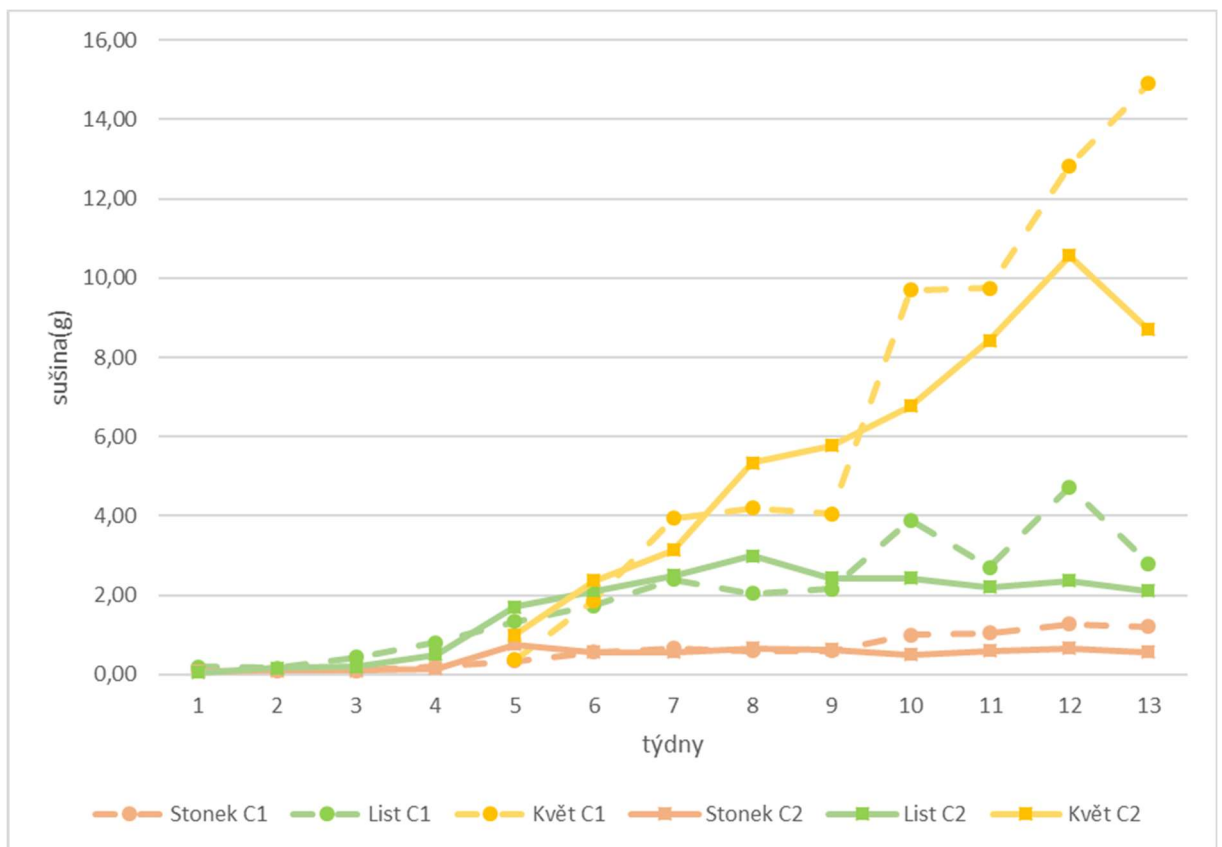
Množství vyprodukované sušiny se výrazně lišilo mezi jednotlivými částmi rostlin i mezi variantami hydroponie. Nejméně zastoupenou částí rostlin byly stonky, jejichž sušina se pohybovala mezi 0,8 až 1,27g. V jejich případě nebyl zaznamenán prakticky žádný statisticky průkazný rozdíl mezi variantou 1C a 2C. Nicméně je minimálně od 10. týdne patrný trend vyššího množství sušiny u varianty 1C (Obr. 8.).



Obr. 8. Množství vyprodukované sušiny v jednotlivých částech rostlin konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C). Písmena ve sloupcích indikují statisticky průkazné rozdíly množství sušiny mezi jednotlivými částmi konopí (stonek, list, květ) v rámci obou variant v daném týdnu zjištěné na základě Tukeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Větší množství biomasy bylo zastoupeno listy. Jejich sušina se pohybovala mezi 0,05 až 6,3g. Rozdíly v množství vyprodukované sušiny listů se lišily pro různé růstové fáze. Mezi 5. až 9. týdnem vykazovala varianta 1C spíše nižší hodnoty, od 10. týdne se však trend otáčí a varianta 1C produkovala větší množství biomasy (ale ne v rámci statisticky průkazných rozdílů).

Největšího podílu sušiny dosáhly květy ve finální fázi růstového experimentu. Jejich sušina se pohybovala v závislosti na fázi růstu konopí od 0 do 20,0 g. Množství sušiny dosáhlo průkazně větších hodnot oproti stonkům a listům od 8. týdnu. Mezi 5. a 9. týdnem převažoval mírně trend vyšších hodnot u varianty 2C (mimo 7. týdnu). Po zbytek období však množství sušiny nabývá vyšších hodnot ve variantě 1C. Opět platí, že ve většině případů však není rozdíl statisticky průkazný.



Obr. 9. Průběh růstu biomasy (sušiny) v jednotlivých částech rostlin konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C).

Z hlediska dynamiky nárůstu sušiny vykazují různé části konopí odlišné trendy (Obr. 9). Biomasa stonků narůstá velmi pozvolna. U varianty 1C je růst zastaven v 5. týdnu. Naopak u

varianty 2C pozvolna pokračuje až do konce 13. týdne. Listy mají pomalý, pro obě varianty shodný rozvoj do 4. týdne. Následně dochází u varianty 2C k jejich dalšímu růstu až do 8. týdne, kde dosahují maxima a poté dochází k mírnému úbytku jejich biomasy. U varianty 1C je rozvoj o něco pomalejší, nicméně v závěrečných 4 týdnech dosahují listy vyšších hodnot biomasy než u varianty 2C. U květů dochází u obou variant k rychlému růstu od 5. týdne. U varianty 1C probíhá tento intenzivní růst až do závěru experimentu. Varianta 2C vykazuje o něco mírnější rychlost růstu a v závěrečném týdnu dokonce množství biomasy květů klesá.

5.2 Vliv typu hydroponie na koncentraci mikroživin

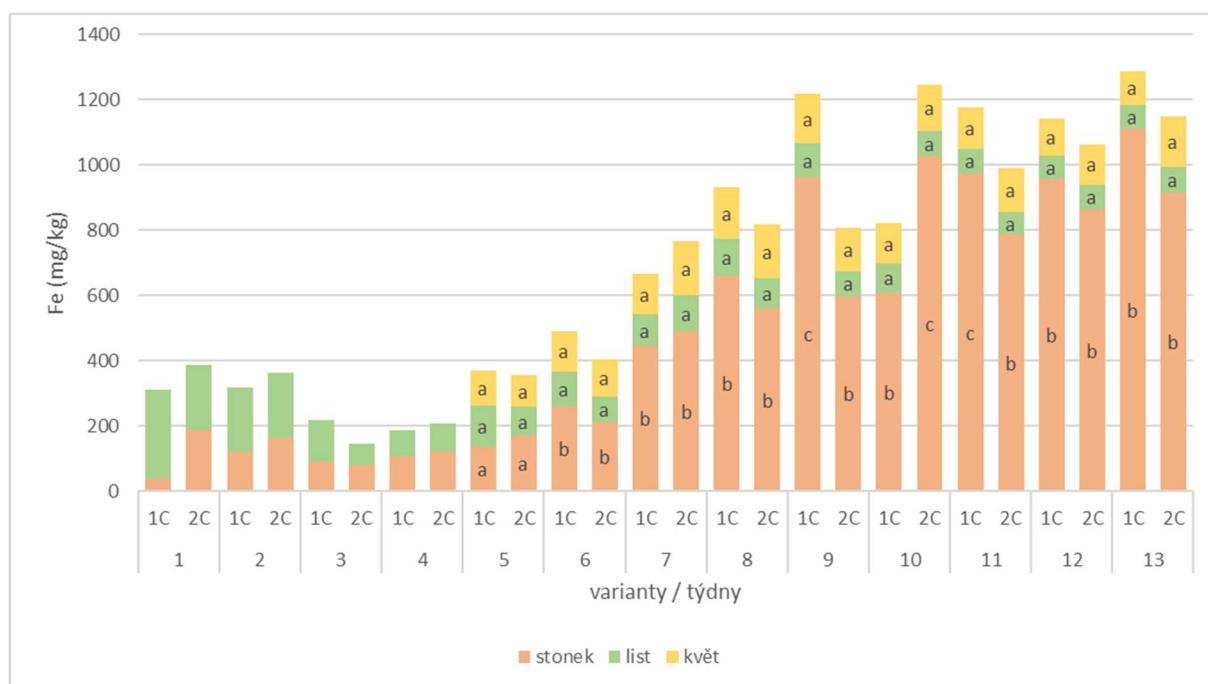
Použité varianty podávání živného roztoku (recirkulační – 1C a „drain to waste“ – 2C) měly vliv na koncentraci mikroprvků v rostlinách konopí. Rozdíly v koncentraci byly nalezeny mezi jednotlivými částmi rostlin, tedy stonky, listy a květy a také v různých vývojových fázích.

5.2.1 Železo

Koncentrace Fe se v rostlinách pohybovala v širokém rozmezí od 39,9 do 1110,9 mg.kg⁻¹. Koncentrace Fe se výrazně lišila v různých částech rostlin (Obr. 10). Nejvyšší průměrná koncentrace byla ve stoncích (486,4 mg.kg⁻¹). Výrazně nižší byla zaznamenána u listů a květů (109,1 respektive 131,5 mg.kg⁻¹).

Nejnižší i nejvyšší hodnota byla zaznamenána u varianty 1C. Průměrná koncentrace Fe u této varianty byla 497,6 mg.kg⁻¹ ve stoncích, 118,5 mg.kg⁻¹ v listech a 125,9 mg.kg⁻¹ v květech. Trend vývoje obsahu Fe byl následující (viz Obr. 10): V prvních pěti týdnech byla koncentrace Fe v rostlinách nízká a držela se na stejné úrovni. Mezi 6. a 9. týdnem došlo k výraznému nárůstu koncentrace, která se udržela po zbytek experimentu (mimo 10. týdnem, kdy došlo k výraznému propadu). U varianty 2C byl zaznamenán obdobný trend vývoje obsahu Fe, s tím rozdílem, že propad popsáný u varianty 1C, byl zaznamenán už v 8. a 9. týdnem. Na základě analýzy ANOVA byly nalezeny následující statisticky průkazné rozdíly v obsahu Fe mezi dvěma danými variantami experimentu: Průkazné rozdíly byly nalezeny mezi obsahem Fe prakticky pouze ve stoncích, a to pouze v 6., 9. a 10. týdnem pěstování. Ve dvou případech byl obsah vyšší u varianty 1C (o 22,0 % v 6. a o 61,2 % v 9. týdnem), v jednom případě u varianty 2C (o 40,7 % v 10. týdnem). V případě obsahu Fe v listech byl nalezen pouze průkazný rozdíl v 6.

týdnu, kdy byl obsah vyšší (o 33,9 %) u varianty 1C. U obsahu v květech nebyl prokázán mezi variantami experimentu ani v jednom týdnu.



Obr. 10. Koncentrace Fe v jednotlivých částech rostlin konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C). Písmena ve sloupcích indikují statisticky průkazné rozdíly koncentrace Fe mezi jednotlivými částmi konopí (stonek, list, květ) v daném týdnu zjištěné na základě Tukeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

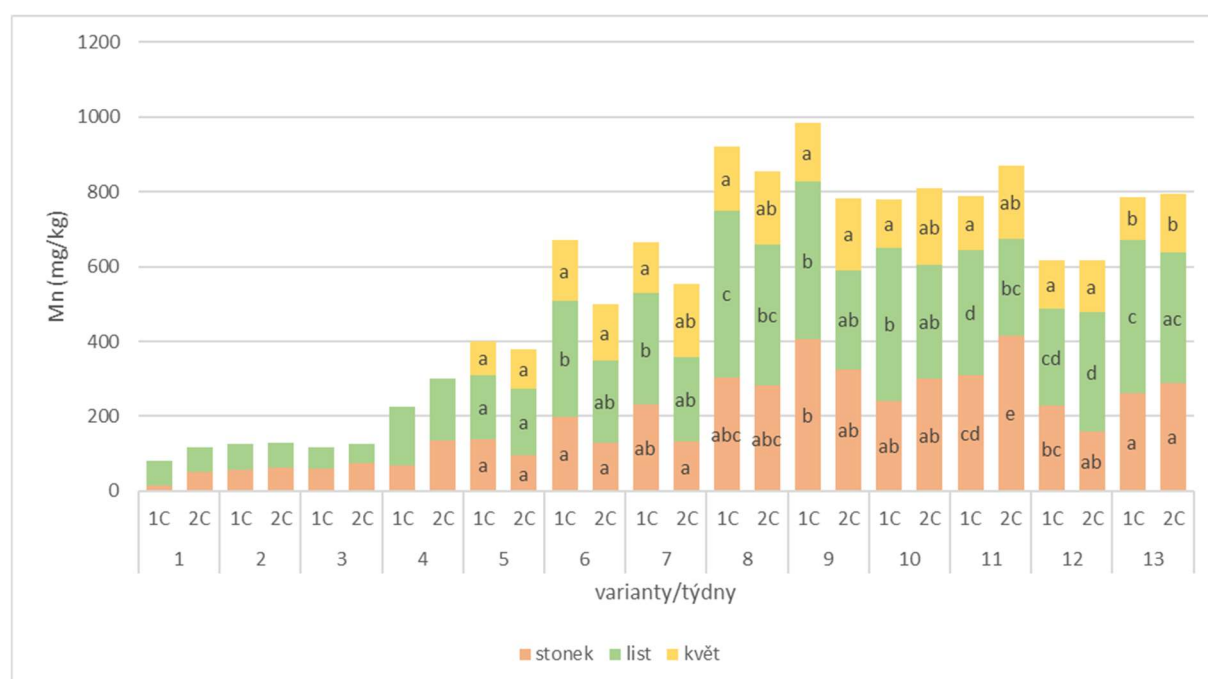
5.2.2 Mangan

Obsah Mn se v rostlinách pohyboval v rozmezí od 15,4 do 444,5 mg.kg⁻¹. Koncentrace Mn byla odlišná v různých částech rostlin (Obr. 11). Nejvyšší průměrná koncentrace byla v listech (240,0 mg.kg⁻¹). Ve stoncích a květech byla zjištěna koncentrace o něco nižší (191,3 respektive 154,2 mg.kg⁻¹).

Průměrné vyšší hodnoty obsahu Mn byly zaznamenány u varianty 1C ve stoncích (193,0 oproti 188,0 mg.kg⁻¹ ve variantě 2C) a listech (261,7 oproti 218,3 mg.kg⁻¹ ve variantě 2C). Opačný výsledek je u obsahu Mn v květech, kde byla koncentrace vyšší ve variantě 2C (171,0 oproti 137,3 mg.kg⁻¹ ve variantě 2C). Obsah Mn v rostlinách konopí v různých fázích růstu nevykazuje tak výrazné změny jako Fe. V prvních čtyřech týdnech byl obsah nízký, pak došlo k mírnému nárůstu a fluktuaci jeho koncentrace, bez zřetelného trendu (viz obr. 9). To platí jak

pro stonky, tak listy. V případě květů je obsah Mn víceméně stabilní po celou dobu jejich růstu (od 5. do 13. týdne).

Pomocí analýzy ANOVA byly nalezeny následující statisticky průkazné rozdíly v obsahu Mn mezi zkoumanými variantami. Průkazné rozdíly byla nalezeny mezi obsahem Mn ve všech částech konopí. V případě stonku byla koncentrace Mn vyšší u varianty 1C v 6. týdnu (o 53,4 %), naopak v 11. týdnu byla koncentrace vyšší u varianty 2C (o 34,4 %). U listů byl zaznamenán prokazatelně vyšší obsah u varianty 1C a to v 9. a 11. týdnu (o 58,8 respektive 29,4 %). U obsahu Mn v květech nebyl prokázán mezi variantami experimentu ani v jednom týdnu. U květů byl zaznamenán opačný trend, kdy v 10. týdnu byla vyšší hodnota u varianty 2C (o 62,5 %). Obecně lze ale konstatovat, že případů s průkaznými rozdíly je malé množství.



Obr. 11. Graf koncentrace Mn v jednotlivých částech rostlin konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C). Písmena ve sloupcích indikují statisticky průkazné rozdíly koncentrace Mn mezi jednotlivými částmi konopí (stonek, list, květ) v daném týdnu zjištěné na základě Tukeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

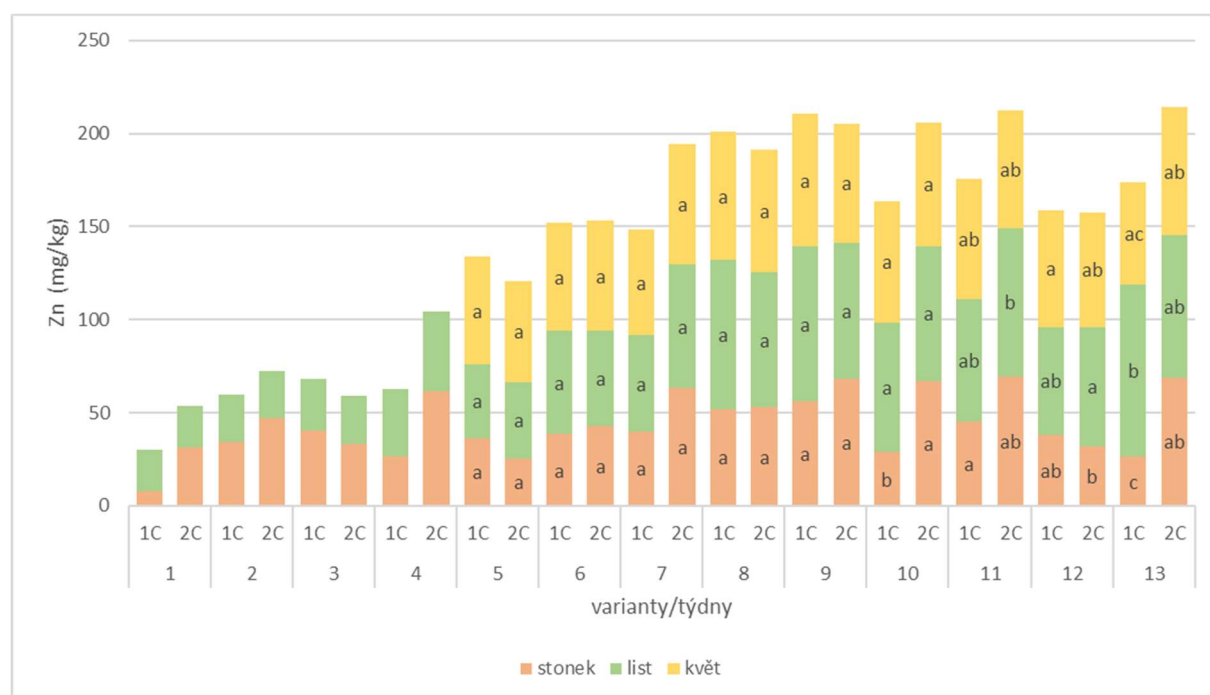
5.2.3 Zinek

Koncentrace zinku se v pěstovaných rostlinách konopí pohybovala v širokém rozmezí od 7,87 mg.kg⁻¹ (stonek, varianta 1C) do 101,8 mg.kg⁻¹ (list, varianta 1C). Koncentrace Zn se lišila v různých částech rostlin (Obr. 12). Vyšší průměrná koncentrace byla ve květech a listech (63,3

mg.kg⁻¹ respektive 60,1 mg.kg⁻¹). O něco nižší byla nalezena stonků (46,8 mg.kg⁻¹). Vývoj koncentrace Zn v stoncích konopí nevykazoval výrazné trendy, tak jak tomu bylo např. u Fe. Obsah mírně narůstal v prvních dvou týdnech a dále jen kolísal. Obsah v listech postupně narůstal až do 7. týdne a dále zůstal stejný (obr. 10). V případě květů je obsah Zinku s časem prakticky neměnný.

Rozdílů mezi sledovanými variantami hydroponického pěstování bylo nalezeno minimum. Průměrné hodnoty obsahu Zn byly zaznamenány mírně vyšší u varianty 2C ve všech sledovaných částech rostlin, kdy koncentrace činila ve stoncích 55,0 mg.kg⁻¹ (oproti 38,6 mg.kg⁻¹ ve variantě 1C) a listech 62,3 mg.kg⁻¹ (oproti 57,9 mg.kg⁻¹ ve variantě 1C) a květech 63,9 mg.kg⁻¹ (oproti 62,7 mg.kg⁻¹ ve variantě 1C).

Statisticky průkazně odlišné rozdíly v obsahu Zn byly nalezeny pouze ve dvou případech, a to u stonků v 10. a 13. týdnu, kdy koncentrace u varianty 2C byla vyšší o 133,9 respektive 161,9 %. Stejný trend je patrný (ale ne průkazně rozdílný) i u stonků rostlin sklizených v 7., 9. a 11. týdnu.



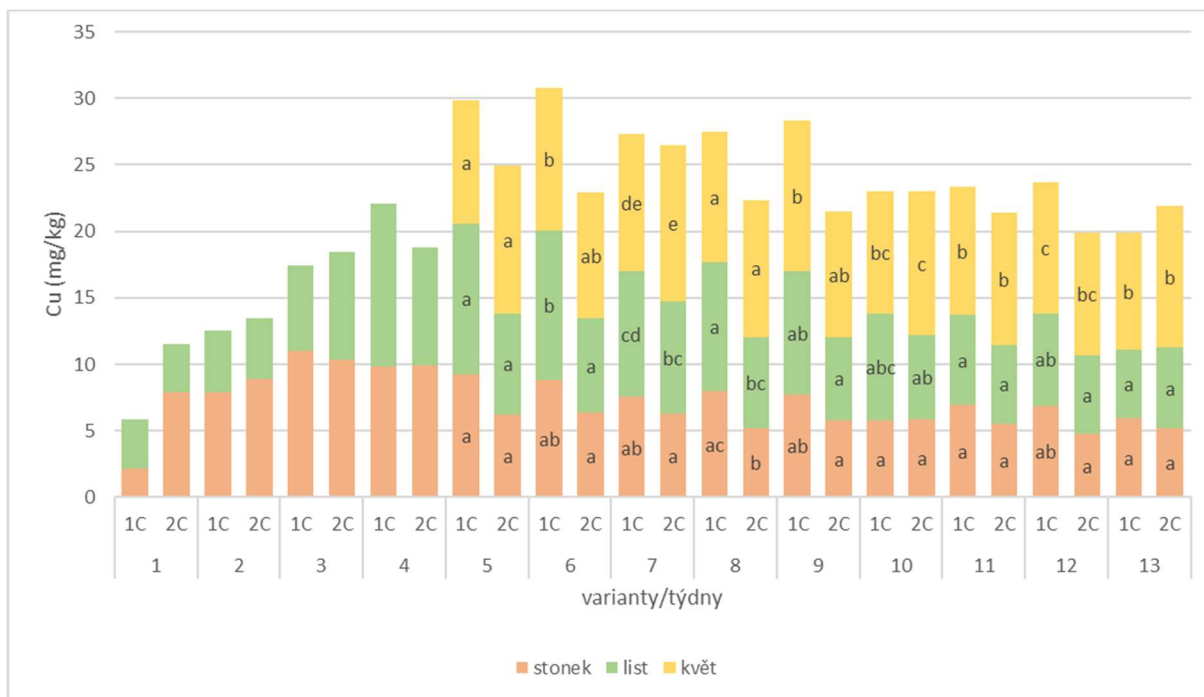
Obr.12. Graf koncentrace Zn v jednotlivých částech rostlin konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C). Písmena ve sloupcích indikují statisticky průkazné rozdíly koncentrace Zn mezi jednotlivými částmi konopí stoněk, list, květ) v daném týdnu zjištěné na základě Tukeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5.2.4 Měď

Obsah mědi kolísal v rostlinách konopí mezi 5 a 14,5 mg.kg⁻¹. Rozdíly jsou patrné mezi jednotlivými částmi rostlin, variantami hydroponie a etapou pěstování. Varianta 1C vykazovala obecně vyšší koncentrace Cu ve všech třech částech rostlin. Ve stoncích byl průměrný obsah 7,3 mg.kg⁻¹, v listech 8,5 mg.kg⁻¹ a květech 9,9 mg.kg⁻¹. U varianty 2C jsou hodnoty mírně nižší (stonky 6,1 mg.kg⁻¹, listy 6,6 mg.kg⁻¹ a květy 10,2 mg.kg⁻¹).

Obsah mědi vykazuje specifické trendy u jednotlivých částí rostlin (Obr. 13). V případě stonků došlo u obou variant v rychlému zvýšení koncentrace na maximum v 3. a 4. týdnu a následnému mírnému poklesu. Od 6. týdnu je pak koncentrace prakticky stabilní. V případě listů platí obdobný trend. Maximální koncentrace Cu byla zaznamenána po rychlém nárůstu v období 4. a 5. týdne, následně koncentrace mírně klesá až do závěru experimentu. V případě květů je trend odlišný. Koncentrace je hned od začátku vysoká a její výše se v průběhu dalšího růstu nemění.

Pomocí analýzy ANOVA byly nalezeny v osmi případech průkazné rozdíly v obsahu Cu mezi zkoumanými variantami. Tyto průkazné rozdíly byla nalezeny mezi obsahem Cu ve všech částech konopí. V případě stonku byla koncentrace Cu vyšší u varianty 1C v 9. a 13. týdnu a to o 33,2 respektive 13,6 %. U listů byl zaznamenán stejný trend, tedy vyšší koncentrace u varianty 1C a to v 6., 8. a 9. týdnu. Hodnoty byly vyšší o 57,5, 41,5 a 48,8 %. U koncentrace mědi v květech byl prokázán opačný trend než u stonků a květů, neboť vyšší hodnoty byly nalezeny varianty 2C. Konkrétně jde o obsahy v 7., 10. a 13. týdnu, kdy hodnoty u varianty 2C byly vyšší o 13,8, 17,8 a 21,6 %.



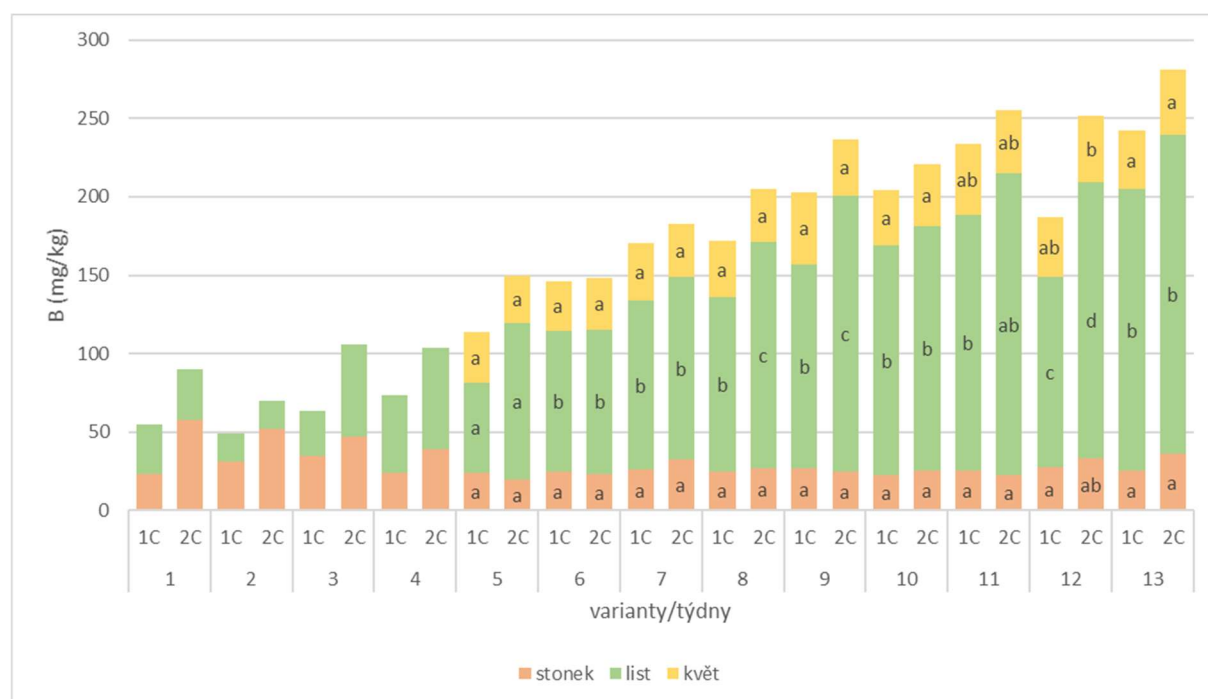
Obr. 13. Graf koncentrace Cu v jednotlivých částech rostlin konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C). Písmena ve sloupcích indikují statisticky průkazné rozdíly koncentrace Cu mezi jednotlivými částmi konopí (stonek, list, květ) v daném týdnu zjištěné na základě Tukeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5.2.5 Bór

Koncentrace B byla v rostlinách konopí v rozmezí od 13,9 do 249,4 mg.kg⁻¹. Koncentrace B byla výrazně odlišná v různých částech rostlin (Obr. 14). Jednoznačně nejvyšší průměrná koncentrace byla zjištěna v listech (118,4 mg.kg⁻¹). Ve stoncích a květech byla zjištěna koncentrace výrazně nižší (28,1 respektive 37,8 mg.kg⁻¹). V rámci pěstebních variant byla zjištěna vyšší koncentrace B u stonků u varianty 2C (30,5 mg.kg⁻¹ oproti 25,7 mg.kg⁻¹ u 1C), u listů také u varianty 2C (137,7 mg.kg⁻¹ oproti 103,0 mg.kg⁻¹ u 1C). Opačný trend vykazují květy, kde je koncentrace vyšší u varianty 1C (38,1 mg.kg⁻¹ oproti 37,4 mg.kg⁻¹ u 2C).

Obsah B v rostlinách konopí v různých fázích růstu vykazuje pro sledované části rostlin odlišné trendy (obr. 14). Koncentrace B je nejvyšší v počáteční fázi růstu (do 4. týdne, následně klesá a zůstává stabilní). Oproti tomu koncentrace B v listech neustále roste a dosahuje nejvyšších hodnot v závěrečném období experimentu. Růst koncentrace vykazuje pozvolný, stabilní růst. Koncentrace v květech je oproti listům, stejně jako u stonků, výrazně nižší, avšak stabilní po celou dobu růstu.

Pomocí analýzy ANOVA byly nalezeny následující statisticky průkazné rozdíly v obsahu B mezi zkoumanými variantami. Průkazné rozdíly byla zjištěny mezi obsahem Mn ve všech částech konopí. V případě stonku byla koncentrace Mn vyšší u varianty 2C v 7. a týdnu (o 22,5 %), a 13. týdnu byla koncentrace vyšší u varianty 2C (o 44,0 %). U listů byl zaznamenán prokazatelně vyšší obsah B u rovněž u varianty 2C a to v 8. (o 30,0 %), 9. (35,1 %), 11. (o 18,1 %) a 12. týdnu (44,0 %). U obsahu B v květech nebyl rozdíl prokázán mezi variantami experimentu ani v jednom týdnu.



Obr.14. Graf koncentrace B v jednotlivých částech rostlin konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C). Písmena ve sloupcích indikují statisticky průkazné rozdíly koncentrace B mezi jednotlivými částmi konopí (stonek, list, květ) v daném týdnu zjištěné na základě Tukeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5.2.6 Molybden

Koncentrace Mo byla v rostlinách konopí v rozmezí od nedetekovatelného množství až po hodnotu $7,4 \text{ mg.kg}^{-1}$, která byla zjištěna v listech rostlin konopí u varianty 1C (Obr. 15).

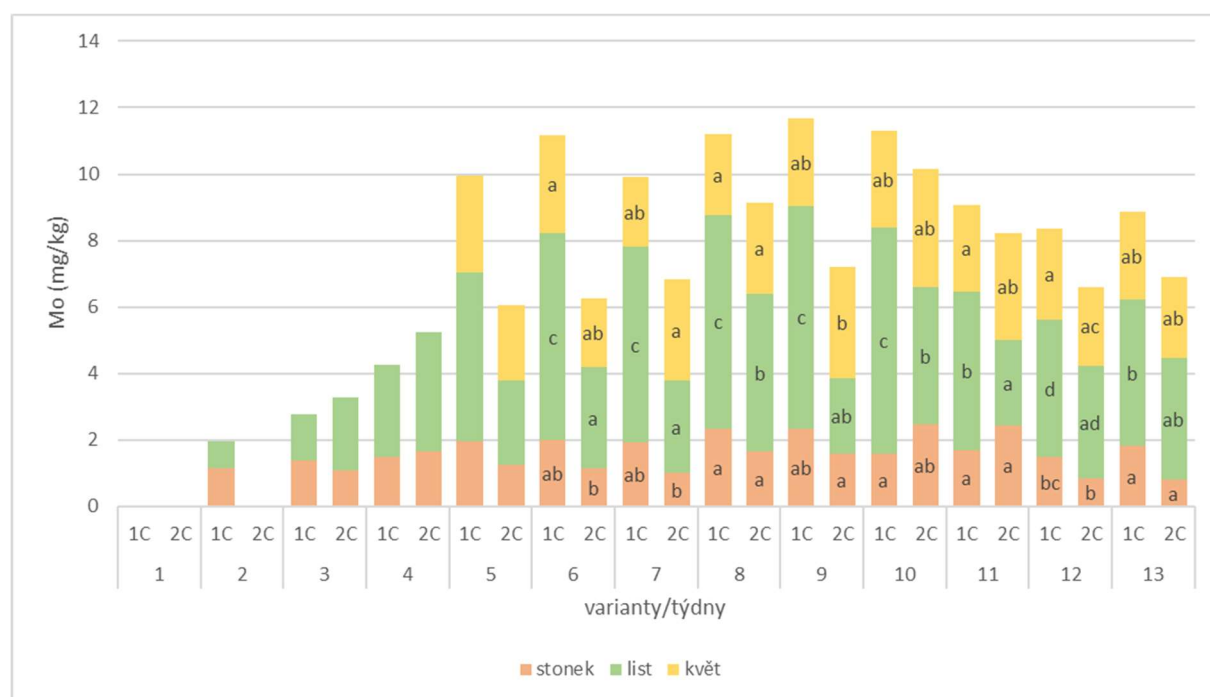
U koncentrací Mo v různých částech rostlin byly popsány značné odlišnosti. Nejvyšší průměrnou koncentraci mají listy konopí pěstovaného v recirkulační hydroponii (1C) a to $4,7 \text{ mg.kg}^{-1}$. U varianty 2C byla zjištěna koncentrace pouze $3,2 \text{ mg.kg}^{-1}$. V případě stonků byl průměrný obsah Mo vyšší také u varianty 1C ($1,8 \text{ mg.kg}^{-1}$, oproti 2C – $1,3 \text{ mg.kg}^{-1}$). Opačný

rozdíl vykazuje koncentrace v květech, kde je koncentrace vyšší naopak u varianty 2C (2,8 mg.kg⁻¹) oproti 1C (1,6 mg.kg⁻¹).

Obsah Mo v rostlinách konopí v různých fázích růstu vykazuje pro sledované části rostlin odlišné trendy (obr.15). U stonků je koncentrace Mo nejvyšší ve střední části růstu. Do cca 4. - 5. týdne se koncentrace mírně zvyšovala, následně byla několik týdnů stabilní a v posledních třech týdnech vykazovala pokles. V listech koncentrace Mo rychle narůstala v prvních pěti týdnech, od 10. týdne je pak vidět trend značící pokles jeho koncentrace. Koncentrace Mo v květech byla stabilní po celou dobu experimentu.

Analýza ANOVA zachytila průkazné rozdíly v koncentraci Mo v pokusných variantách u stonků a listů. V případě stonků, byl zjištěn rozdíl v týdnech 7,12 a 13, kdy byly naměřeny vyšší koncentrace pro variantu 1C o 89,6, 77,5 a 24,1 %. Nejvýraznější rozdíly mezi variantami byly zjištěny u listů, kdy koncentrace Mo byla výrazně vyšší u varianty 1C, a to kontinuálně mezi 6. a 11. týdnem a to o 104,5, 113,2, 35,7, 193,1, 65,4 a 124,2 %.

V květech nebyl rozdíl koncentrací mezi variantami experimentu ani v jednom týdnu zjištěn.

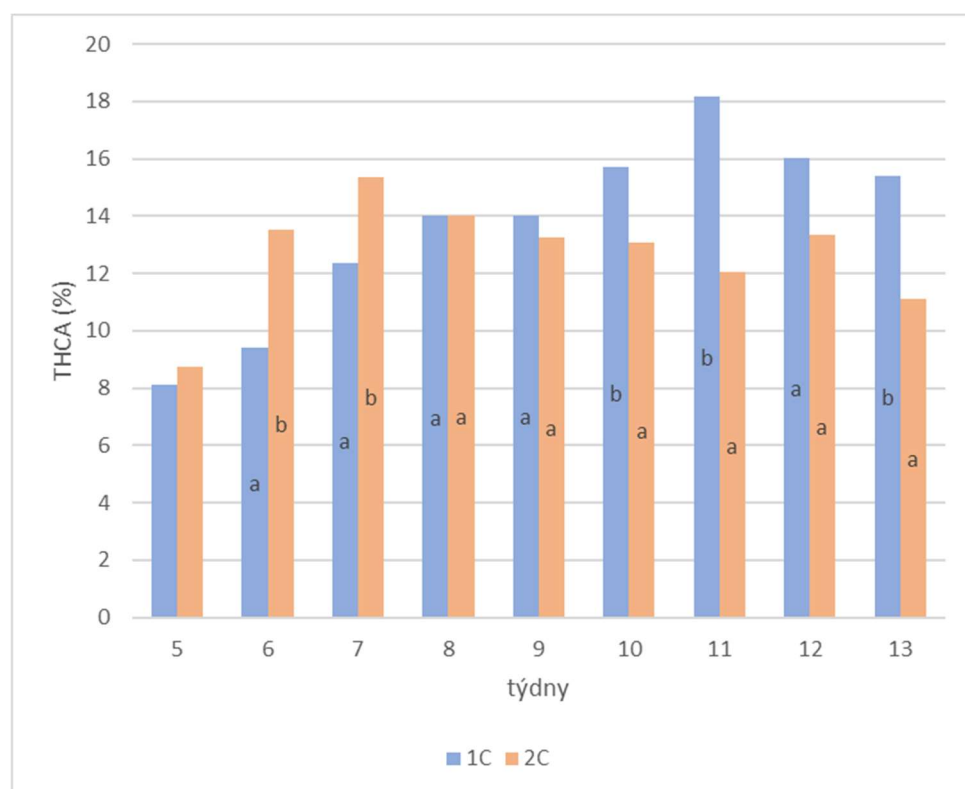


Obr. 15. Graf koncentrace Mo v jednotlivých částech rostlin konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C). Písmena ve sloupcích indikují statisticky průkazné rozdíly koncentrace Mo mezi jednotlivými částmi konopí (stonek, list, květ) v daném týdnu zjištěné na základě Tukeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5.3 Vliv typu hydroponie na obsah a výnos kanabinoidů

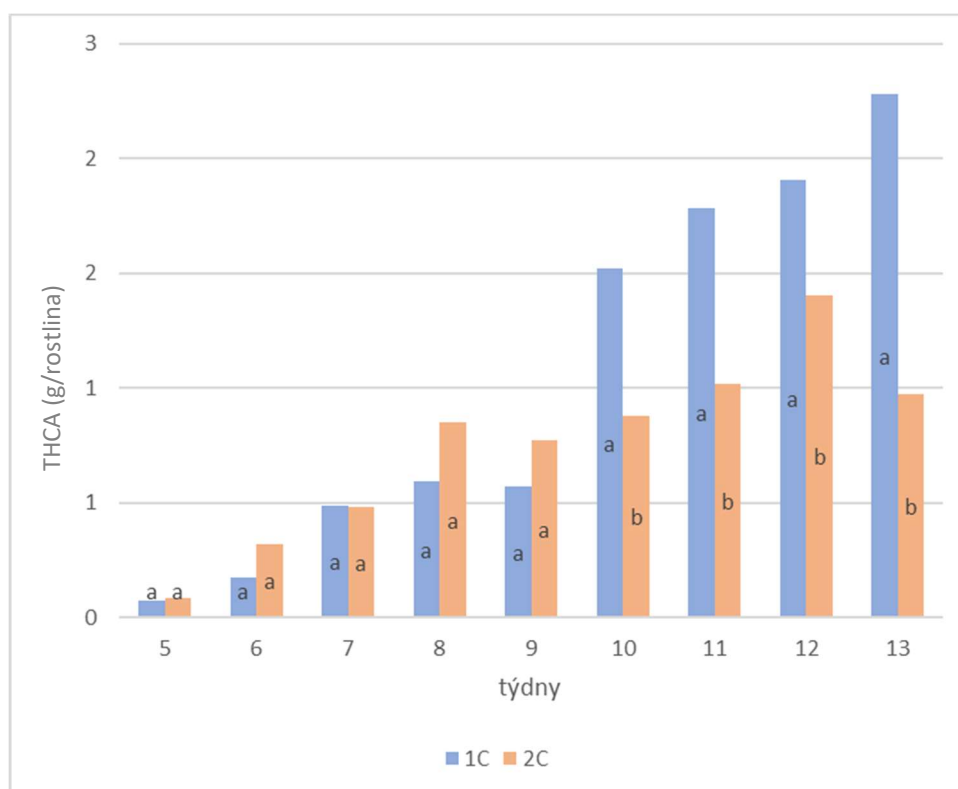
V rámci experimentu byl sledován vliv způsobu výživy na obsah THCA v květech konopí. Obsah THCA se pohyboval v rozsahu 8,1 – 18,1 %. U varianty s recirkulací roztoku (1C) docházelo k nárůstu obsahu THCA v celém období mezi 5. a 11. týdnem (z 8,1 na 18,2 %) (obr. 16). V 12. a 13. týdnu došlo k jejímu nevýraznému snížení (na 15,4 %). U varianty s „drain to waste“ systémem (2C) se zvyšoval obsah první tři týdny (z 8,7 na 15,7 %), od 8. týdne celkové kultivace docházelo k jejímu snižování až do konce experimentu (na 11,1 %).

S pomocí analýzy ANOVA s následným použitím Tukeyova HSD testu byl v 6. a 7. týdnu zjištěn průkazně vyšší obsah THCA v květech u varianty 2C oproti variantě 1C o 43,6 % respektive 24,2 %. V 8. a 9. týdnu byly koncentrace u obou variant vyrovnané. Od 10. týdne byla koncentrace THCA prokazatelně vyšší u varianty s recirkulací roztoku (1C). Snížení se pohybovalo mezi 16,7 až 33,8 % oproti variantě 2C.



Obr.16. Graf koncentrace THCA v květech konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C). Písmena ve sloupcích indikují statisticky průkazné rozdíly obsahu THCA mezi sledovanými variantami hydroponie v daném týdnu zjištěné na základě Tukeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výnos THCA (daný kombinací obsahu THCA a produkcí sušiny květů) vykazoval u obou variant kontinuální růst (Obr. 17). V případě varianty 1C je tento růst zpočátku pozvolný, následuje skokový nárůst mezi 9. a 10. týdnem a pak dochází k opětovnému růstu hodnot. U varianty 2C k tomuto skoku nedošlo. Rychlost růstu výnosu je obdobný jako u 1C varianty, ale celkové hodnoty jsou průkazně nižší. V posledním týdnu experimentu dokonce u varianty 2C dochází k poklesu a hodnoty výnosu THCA dosahují pouze 42,3 % hodnoty výnosu varianty 1C.



Obr.17. Graf výnosu THCA v květech konopí pěstovaných ve dvou variantách podávání hydroponického roztoku (1C a 2C). Písmena ve sloupcích indikují statisticky průkazné rozdíly obsahu THCA mezi sledovanými variantami hydroponie v daném týdnu zjištěné na základě Tukeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

6 Diskuze

Vhodný přísun živin, včetně mikroprvků, je důležitým faktorem ovlivňující růst rostlin, obsah prvků v jejich tkáních a dalších látek, jako např. kanabiodů v případě léčebného konopí.

Sledované varianty hydroponie ukázaly vliv na množství vyprodukované sušiny. Trend vyšší produkce u recirkulačního systému je pozorovatelný z grafů (Obr. 8 a 9). Hlavní podíl biomasy byl tvořen od 8. týdne květy, které v tomto období tvořily 59,3 – 77,8 % celé biomasy rostlin konopí. Jejich růst a dominance na tvorbě biomasy v případě varianty 1C pokračovala až do závěru růstového experimentu. Nižší dodávky živin nezpůsobily předčasné uzrání rostlin a došlo tak ke kontinuálnímu rozvoji oproti variantě 2C, u které intenzivní dodávka výživy vedla k dozrání rostlin ještě před ukončením experimentu a tím zastavení růstu. Ke stejným závěrům dospěl ve své studii Gepstein a Glick (2013). Tento vliv je pak nejvíce patrný na biomase květů, která byla u 1C varianty v závěru experimentu nižší o 41,6 %.

Porovnávané způsoby hydroponie vykazovaly rozdíly v obsahu mikroživin v rostlinách pěstovaného konopí a v jeho částech. Změřená koncentrace železa se výrazně lišila mezi jednotlivými částmi rostlin konopí, minimálně však mezi typy hydroponie. Jeho koncentrace ve stoncích násobně převažovala koncentraci v listech a květech. To je dáno nízkou mobilitou Fe v rostlinách. Koncentrace železa v rostlinách konopí korespondovala s dalšími studiemi. Zjištěný průměrný obsah v listech zkoumaného konopí $109,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ odpovídá hodnotám uváděných v pracích Cockson et al. (2019), který zjistil obsah v listech kontrolních rostlin (tedy těch s dostatečnou výživou Fe) ve výši $111,75 \text{ mg.kg}^{-1}$. Wogiatzi et al. (2019) uvádí obsah Fe v sušině $129,0 - 139,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ bez ohledu na varianty závlivky a úroveň hnojení dusíkem.

V rámci sledovaných variant hydroponie bylo v případě Fe zjištěno minimum průkazných rozdílů v jeho obsahu v jednotlivých částech rostlin. U květů a listů nebyl nalezen žádný rozdíl v obsahu. U stonků, kde byla celkově koncentrace Fe výrazně vyšší, byl nalezen trend, kdy od 6. týdne je vyšší obsah Fe ve variantě 1C (s výjimkou 10. týdne), ale pouze v 9. a 11. týdnu byl tento rozdíl statisticky průkazný. Vyšší obsah lze pravděpodobně přičíst lepší dostupnosti Fe v důsledku kolísání (snižování) koncentrace prvků v recirkulačním systému (varianta 1C), které mohou v příjmu Fe působit antagonisticky, jako je Cu, Zn nebo Mn (Richter a Hlušek, 1994).

Obsah manganu byl oproti železu v jednotlivých částech relativně vyrovnaný. Jeho zjištěná koncentrace v rostlinách konopí, která dosahovala rozmezí od $15,4$ do $444,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ byla oproti jiným autorům vyšší. Cockson et al. (2019) ve své studii uvádí obsah Mn při běžné výživě $29,40 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Z hlediska odlišnosti koncentrace při různých typech výživy lze konstatovat, že průkazných rozdílů lze nalézt velmi málo. Pro každou z částí rostlin konopí se vždy jedná o zjištěné koncentrace Mn z dvou týdnů v rámci celého pěstebního cyklu a rozdíly jsou opačné. Jednou je vyšší koncentrace u varianty 1C, podruhé u 2C. Nelze tedy vyčíst jasný trend, který by poukazoval na to, že by existoval vliv systému pěstování na obsah Mn. Vysvětlením může být obecně nižší citlivost rostlin na koncentrace Mn v živném roztoku vůči produkci biomasy (Cockson et al., 2019).

Koncentrace zinku v rostlinách konopí se pohybovala v rozmezí popsaném i jinými autory (např. Cockson et al., 2019). Jeho koncentrace byla v jednotlivých částech rostlin spíše vyrovnaná. Po počátečním nárůstu (1.-6. týden) zůstala koncentrace obdobná. Výrazněji se měnila jen u stonků, kde docházelo ke střídavému snižování a zvyšování. Nejstabilnější koncentrace byla v květech. Průkazných rozdílů v koncentraci Zn v rostlinách konopí mezi zkoumanými variantami bylo minimum. Průkazný rozdíl koncentrací Zn byl zjištěn pouze u stonků v 10. a 13. týdnu, kdy byla koncentrace výrazně vyšší u varianty „drain to waste“. Stejný, ale statisticky neprůkazný trend je možné pozorovat i v jiných týdnech. Naznačuje to, že v případě Zn existuje vliv způsobu výživy. To odpovídá zjištěním Alloway (2009), který popsal snížení výnosů biomasy již při mírné deficienci zinku. Podobné závěry přináší i další studie (např. Cockson et al., 2019). Experiment naopak neprokázal závěry jiných prací, kde byl zjištěn průkazně vyšší obsah Zn v květenství oproti stonkům (Shiponi a Bernstein, 2021).

Obsah mědi v sledovaných částech rostlin odpovídal výši koncentrace v jiných studiích (Cockson et al., 2019). V rámci sledovaných částí rostlin konopí, byl nejvyšší obsah zachycen v květech (8,8-11,3 mg.kg⁻¹). To odpovídá zjištěním Arru et al. (2004), kteří popsali zvýšenou koncentraci v trichomech (které se ve větší míře vyskytují právě v květenstvích). Statisticky průkazné rozdíly byly nalezeny ve všech třech částech rostlin v celkem 7 případech. U stonků a listů byla vždy vyšší koncentrace u varianty 1C, u květů byl trend opačný.

V případě bóru je výrazným znakem jeho vysoká koncentrace v listech (18,0-203,5 mg.kg⁻¹), která násobně překračuje obsahy v stoncích (19,2-57,7 mg.kg⁻¹) a květech (30,2-45,9 mg.kg⁻¹). Koncentrace B ve stoncích je prakticky konstantní po celou dobu růstu. Naopak u listů lze nalézt nejvíce rozdílů koncentrace B. Varianta 2C má ve třech případech statisticky průkaznou vyšší koncentraci než 1C (8., 9. a 12. týden). V ostatních případech je tento trend sice také patrný, ale ne na úrovni statistické průkaznosti. V případě B je tedy v listech patrný vliv typu použitého hydroponického systému a odpovídá závěrům práce Cockson et al. (2019). Systém s neustálým obměňováním roztoku a plná koncentrace živin v něm vedou k zvýšené

koncentraci B. U zbývající částí konopí buď není tento trend zachycen (květ), nebo je sledován pouze v malém počtu případů (stonek).

Molybden vykazoval relativně nízké hodnoty koncentrací oproti jiným studiím (např. Cockson et al., 2019). Nejvyšší koncentrace byla zaznamenána v listech (průměr $3,9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Právě v nich byly také nalezeny nejčastěji rozdíly v jeho koncentraci mezi sledovanými variantami. Mezi 7. a 11. týdnem byl vždy prokázán rozdíl v koncentracích, kdy výrazně vyšší obsah byl zaznamenán u recirkulačního systému (1C) a to o 8 až 193,1 %. Jde tedy o stejný trend jako u Mn a Cu, ale opačný trend, než jaký byl popsán např. u B. Stejný trend jako u listů, je i u stonků, i když v menší míře. Vyšší počet případů statisticky průkazných rozdílů ukazuje na vliv způsobu výživy na obsah Mo v konopí.

V rámci experimentu se koncentrace THCA pohybovala v rozsahu 8,1 – 18,1 %. Dosáhla nejvyšších hodnot u varianty 1C, a to v závěrečné fázi pěstování. V první polovině období tvorby květů byla vyšší koncentrace u varianty 2C. Jejich koncentrace se však v 8. týdnu vyrovnala a od 9. týdne byla vyšší u varianty 1C. Vyšší obsah byl statisticky průkazný v 10., 11., a 13. týdnu. Dřívější pokles obsahu THCA u varianty 2C může souviset s vysokými dávkami N, která se do systému dostávají a přebytek N může působit na tvorbu THCA inhibičně (Albornoz, 2016; Caplan et al., 2017). Vysoké dávky N způsobují předčasné dozrávání rostlin (Gepstein a Glick, 2013). U varianty 1C, kde byl přísun N nižší, došlo k plnému dozrání konopí až o 4 týdny později, tedy v 11. týdnu. Tento trend je ještě více patrný v případě hodnocení celkového výnosu THCA. Ten se od 10. týdne mezi variantami výrazně liší a posledním týdnem experimentu dokonce u varianty 2C dochází k poklesu a hodnoty výnosu THCA dosahují pouze 42,3 % hodnoty výnosu varianty 1C.

7 Závěr

Tato práce zkoumala vliv použití dvou různých výživových systémů – recirkulačního a „drain to waste“ na obsah mikroživin a THCA v různých částech rostliny (stonek, list, květ). Lepší pochopení všech parametrů, které mohou mít vliv na tyto obsahy je důležité z hlediska vlastního příjmu živin, nakládání s nimi rostlinami a jejich transportu v rámci rostliny, ale také z hlediska praktické produkce léčebného konopí. U produkce je totiž vyžadována, v co nejvyšší možné míře stálost právě v obsahu kanabinoidů.

Získané výsledky ukázaly několik trendů v rozdílech výsledné koncentrace mikroživin ve sledovaných částech konopí u porovnávaných systémů hydroponie. Tyto trendy jsou u některých prvků více patrné, u jiných méně. U některých prvků se tyto rozdíly našly u všech částí (např. Cu), u jiných jen v některých částech (např. Fe ve stoncích, Mn v listech a stoncích). Rozdíly v koncentracích mezi variantami se měnili v rámci jednotlivých týdnů a pohybovaly se od několika málo procent do více než 100 %.

Studie potvrdila známé trendy o pohyblivosti a distribuci mikroživin v tkáních rostlin. Některé z prvků vykazují znaky nízké mobility (např. Fe, jehož koncentrace výrazně převažuje ve stonku oproti listům a stonkům), jiné schopnost redistribuce v rostlině a tím i vyrovnané koncentrace ve všech sledovaných částech.

Kromě množství a distribuce mikroživin v léčebném konopí, byl také popsán odlišný trend ve vývoji koncentrace THCA s ohledem na použité výživové systémy. Obsah THCA se pohyboval v rozsahu 8,1 – 18,1 %. Koncentrace se u obou variant měnila v různých fázích kvetení. V počáteční fázi (6. a 7. týden) byl zjištěn průkazně vyšší obsah THCA v květech u varianty 2C oproti variantě 1C (o 43,6 % respektive 24,2 %). Následně (8. a 9. týden) se koncentrace u obou variant vyrovnaly. Od 10. týdne se koncentrace THCA u varianty 2C snížila o 16,7 až 33,8 % oproti variantě s recirkulací roztoku (1C). Tento trend se projevuje i na celkovém výnosu THCA, kdy v závěrečné fázi experimentu dochází u varianty „drain to waste“ (2C) k poklesu výnosu na pouhých 42,3 % varianty s recirkulací (1C).

8 Literatura

- Albornoz, F. (2016). Crop responses to nitrogen overfertilization: A review. *Sci. Hortic.* 205, 79–83. doi: 10.1016/j.scienta.2016.04.026.
- Alejandro, S., Höller, S., Meier, B., Peiter, E. (2020): Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. *Front. Plant Sci.* 11: 300. doi:10.3389/fpls.2020.00300.
- Alloway, B.J. (2009): Soil Factors Associated with Zinc Deficiency in Crops and Humans. *Environmental Geochemistry and Health* 31, 537-548. doi: org/10.1007/s10653-009-9255-4.
- Amrein, P., Rinner, S., Pittorino, T., Espel, J., Schmidmayr, D. (2020): Influence of Light Spectra on the Production of Cannabinoids. *Med Cannabis Cannabinoids* 3, 103-110. doi: 10.1159/000510146.
- Andre, C.M., Hausman, J-F., Guerriero, G. (2016): Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Front. Plant Sci.* 7:19. doi: 10.3389/fpls.2016.00019.
- Andresen, E., Peiter, E., Küpper, H. (2018): Trace metal metabolism in plants. *J. Exp. Bot.* 69, 909–954. doi: 10.1093/jxb/erx465.
- Arru, L., Rognoni, S., Baroncini, M., Bonatti, P., Perata, P. (2004): Copper localization in Cannabis sativa L. grown in a copper-rich solution. *Euphytica* 140, 33-38. doi: 10.1007/s10681-004-4752-0.
- Atakan Z. (2012). Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. *Therapeutic advances in psychopharmacology*, 2(6), 241–254. <https://doi.org/10.1177/2045125312457586>.
- Bernstein, N. Gorelick, J. Kochab, S. (2019a): Interplay between chemistry and morphology in medical cannabis (Cannabis sativa L.). *Industrial Crops and Products* 129, 185-194.
- Bernstein, N., Gorelick, J., Zerahia, R., & Koch, S. (2019b): Impact of N, P, K, and Humic Acid Supplementation on the Chemical Profile of Medical Cannabis (Cannabis sativa L.). *Frontiers in plant science* 10, 736. doi.org/10.3389/fpls.2019.00736.
- Blevins, D.G., Lukaszewski, K.M. (1998): Boron in plant structure and function. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 49: 481–500.

- Bona, E., Marsano, F., Cavaletto, M., Berta, G. (2007): Proteomic characterization of copper stress response in *Cannabis sativa* roots. *Proteomics* 7, 1121-30. doi:10.1002/pmic.200600712.
- Brent, N., Kaiser, K., Gridley, L., Brady, J.N., Phillips, T., Tyerman, S.D. (2005): The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production, *Annals of Botany* 96, 745–754, <https://doi.org/10.1093/aob/mci226>.
- Brighenti, V., Pellati, F., Steinbach, M., Maran, D., and Benvenuti, S. (2017): Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type *Cannabis sativa* L. (hemp). *J Pharm Biomed Anal* 143, 228-236. doi:620 10.1016/j.jpba.2017.05.049.
- Callaghan, R.C., Vander, Heiden, J., Sanches, M., Asbridge, M., Hathaway, A., Kish, S.J. (2021): Impacts of Canada's cannabis legalization on police-reported crime among youth: early evidence. *Addiction* 116:3454-3462. doi: 10.1111/add.15535.
- Caplan, D., Dixon, M., and Zheng, Y. (2017): Optimal rate of organic fertilizer during the flowering stage for cannabis grown in two coir-based substrates. *HortScience* 52, 1796–1803. doi: 10.21273/hortsci12401-17.
- Cockson, P., Hunter, L., Smith, T., Hicks, K., Whipker, B.E. (2019): Characterization of Nutrient Disorders of *Cannabis sativa*. *Applied Sciences*. 9. 4432. doi: 10.3390/app9204432.
- Cockson, P., Veazie, P., Logan, D., Whipker, B.E. (2021): Ideal Rates of Iron in Cannabis Cultivation Vary Depending on End Goal. Dostupné z: <<https://www.cannabisbusinesstimes.com/article/iron-rate-fertility-cannabis-cultivation-plant-nutrition/>>
- De Prato, L., Ansari, O., Hardy, G.E., Howieson, J., O'Hara, G., Ruthrof, K.X. (2022): The cannabinoid profile and growth of hemp (*Cannabis sativa* L.) is influenced by tropical daylengths and temperatures, genotype and nitrogen nutrition. *Industrial Crops and Products* 178, doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114605.
- Gallily, R., Yekhtin, Z., Hanuš, L.O. (2018). The Anti-Inflammatory Properties of Terpenoids from Cannabis. *Cannabis and cannabinoid research*, 3, 282–290. <https://doi.org/10.1089/can.2018.0014>.

- Gepstein, S., and Glick, B. R. (2013): Strategies to ameliorate abiotic stress-induced plant senescence. *Plant Mol. Biol.* 82, 623–633. doi: 10.1007/s11103-013-0038-z.
- Hoenig, M. (2003): "Dry ashing," in *Sample Preparation for Trace Element Analysis*, eds. Z. Mester & R. Sturgeon. Amsterdam: Elsevier, 235-254.
- Hrdina, V., Hrdina, R., Jahodář, L., Martinec, Z., Měrka, V.: *Přírodní toxiny a jedy*. Galén, Praha, 2004, ISBN 80-7262-256-0.
- Kaiser, B.N., K.L., Gridley, K.L., B., Brady, J.N., Philips, T., Tyerman, S.D. (2005): The Role of Molybdenum in Agricultural Plant Production, *Annals of Botany* 96, 745–754. doi.org/10.1093/aob/mci226.
- Kalinowski, J., Edmisten, K., Davis, J., McGinnis, M., Hicks, K., Cockson, P., Veazie, P., Whipker, B.E. (2020): Augmenting Nutrient Acquisition Ranges of Greenhouse Grown CBD (Cannabidiol) Hemp (*Cannabis sativa*) Cultivars. *Horticulturae* 6, 98. doi.org/10.3390/horticulturae6040098.
- Kawachi, M., Kobae, Y., Mori, H., Tomioka, R., Lee, Y., Maeshima, M. (2009): A mutant strain *Arabidopsis thaliana* that lacks vacuolar membrane zinc transporter MTP1 revealed the latent tolerance to excessive zinc. *Plant Cell Physiol.* 50, 1156–1170. doi: 10.1093/pcp/pcp067.
- Kára, J., Stražil, Z., Hutla, P., Ust'ak, S. (2005): *Energetické rostliny. Technologie pro pěstování a využití*. 2005. Výzkumný ústav zemědělské techniky, Praha. 81 s.
- Klem-Marciniak, E., Huculak-Mączka, M., Marecka, K., Hoffmann, K., Hoffmann, J. (2021): Chemical Stability of the Fertilizer Chelates Fe-EDDHA and Fe-EDDHA over Time. *Molecules*. 26, 1933. doi: 10.3390/molecules26071933.
- Knight, G.A., Hansen, S., Connor, M.C., 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.
- Kovář, L. (2012): CANNABIS SATIVA L. – konopí seté / konopa siata. <dostupné z <https://botany.cz/cs/cannabis-sativa/>>.
- Križman, M. (2020): A simplified approach for isocratic HPLC analysis of cannabinoids by fine tuning chromatographic selectivity. *Eur Food Res Technol* 246, 315-322.

- Kubánek, Vladimír. Konopí a mák: (pěstování, výroby, legislativa). V Tribunu EU vyd. 1. Brno: Tribun EU, 2008, 152 s. ISBN 978-80-7399-438-9.
- Kumar, S., Kumar, S., Mohapatra, T. (2021): Interaction Between Macro and Micro-Nutrients in Plants. *Front. Plant Sci.* 12: 665583. doi: 10.3389/fpls.2021.665583.
- Lee, G., Grovey, B., Furnish, T., Wallace, M. (2018): Medical Cannabis for Neuropathic Pain. *Curr Pain Headache Rep.* 22:8. doi: 10.1007/s11916-018-0658-8.
- Lykas, Ch., Giaglaras, P., Kittas, C. (2001): Availability of iron in hydroponic nutrient solutions for rose crops. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 76, 350-352.
- Mahlberg, P.G., Hemphill, J.K. (1983): Effect of Light Quality on Cannabinoid Content of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *Botanical Gazette* 144, 43–48. doi: 10.1086/337342.
- Malík, M., Velechovský, J., Tlustoš, P. (2021): The overview of existing knowledge on medical cannabis plants growing. *Plant, Soil and Environment* 67, 425–442. doi: 10.17221/96/2021-PSE.
- Mechtler, K., Bailer, J., Hueber, K. (2004): Variations of Δ^9 THC content in single plants of hemp varieties. *Industrial Crops and Products – IND CROPS PRODUCTS*. 19. 19-24. 10.1016/S0926-6690(03)00077-3.
- Morelli, E., Scarano, G. (2004): Copper-induced changes of non-protein thiols and antioxidant enzymes in the marine microalga *Phaeodactylum tricoratum*. *Plant Science* 167: 289-296.
- Nieves-Cordones, M., Rubio, F., Santa María, G. (2020): Editorial: Nutrient Use-Efficiency in Plants: An Integrative Approach. *Frontiers in Plant Science*. doi: 10.3389/fpls.2020.623976.
- Pacifico, D., Miselli, F., Carboni, A., Moschella, A., Mandolino, G. (2008): Time course of cannabinoid accumulation and chemotype development during the growth of *Cannabis sativa* L. *Euphytica* 160, 231–240. doi: 10.1007/s10681-007-9543-y.
- Pate, D.W. (1994): Chemical ecology of Cannabis. *Journal of the International Hemp Association* 2: 32-37.

- Pedas, P., Ytting, C.K., Fuglsang, A.T., Jahn, T.P., Schjoerring, J.K., Husted, S. (2008): Manganese efficiency in barley: identification and characterization of the metal ion transporter HvIRT1. *Plant Physiol.* 148, 455–466. doi: 10.1104/pp.108.118851.
- Pollio, A. (2016): The Name of Cannabis: A Short Guide for Nonbotanists *Cannabis Cannabinoid Res.* 1, 234–238.
- Pusiak, R.J., Cox, C., Harris, C.S. (2021): Growing pains: An overview of cannabis quality control and quality assurance in Canada. *Int J Drug Policy*, doi: 10.1016/j.drugpo.2021.103111.
- Radosavljevic-Stevanovic, N., Marković, J., Kustrin, Sn., Ražić, S. (2014): Metals and organic compounds in the biosynthesis of cannabinoids: A chemometric approach to the analysis of *Cannabis sativa* samples. *Natural product research* 28, 511-516. doi: 10.1080/14786419.2014.880912.
- Richter, R. (2004): Multimediální učební texty z výživy rostlin. Dostupné z: <https://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/index.htm>.
- Richter, R., Hlušek, J. (1994): Výživa a hnojení rostlin (I. obecná část). VŠZ v Brně, 177 s. ISBN 80-7157-138-5.
- Robinson, R. (2000): Velká kniha o konopí. Vyd. 2. Překlad Milan Bobysud. Volvox Globator, 2000, 281 s. ISBN 80-720-7339-7.
- Rout, G. (2015): Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Sciences* 3, 1-2. doi: 10.7831/ras.3.1.
- SAKL (2022): Informace k novele zákona č. 167/1998 Sb. o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. Dostupné z: <<https://www.sakl.cz/home/kontakty>>.
- Seeda, M.A., Hellal, F., El Sayed, S., Zanatty, E. (2017): Boron's Importance in Plant Development and Growth: A review. *Egyptian Journal of Agronomy* 39:159-166. doi:10.21608/agro.2017.499.1051.
- Sharma, A., Patni, B., Shankhdhar, D., Shankhdhar, S.C. (2013): Zinc - an indispensable micronutrient. *Physiology and molecular biology of plants: an international journal of functional plant biology* 19, 11–20. doi: 10.1007/s12298-012-0139-1.

- Shiponi, S., Bernstein, N. (2021): The Highs and Lows of P Supply in Medical Cannabis: Effects on Cannabinoids, the Ionome, and Morpho-Physiology. *Front. Plant Sci.* 12:657323. doi: 10.3389/fpls.2021.657323.
- Schoeman, R., de la Harpe, A., Beukes, N., Frost, C.L. (2020): Cannabis with breast cancer treatment: propitious or pernicious? *3 BIOTECH* 12, doi.org/10.1007/s13205-021-03102-1.
- SUKL (2022): Konopí k léčebným účelům, Dostupné z: <<https://www.sukl.cz/konopi-k-lecebny-m-ucelum>>.
- Sun, A.K., Guerinot, M.L. (2007): Mining iron: Iron uptake and transport in plants. *FEBS Letters* 581, 2273-2280. ISSN 0014-5793, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.043>.
- Suraev, A.S., Todd, L., Bowen, M.T., Allsop, D.J., McGregor, I.S., Ireland, C., Lintzeris, N. (2017): An Australian nationwide survey on medicinal cannabis use for epilepsy: History of antiepileptic drug treatment predicts medicinal cannabis use. *Epilepsy Behav.* 70: 334-340. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.02.005.
- Vallée, A., Vallée, J. N., Lecarpentier, Y. (2021): Potential role of cannabidiol in Parkinson's disease by targeting the WNT/ β -catenin pathway, oxidative stress and inflammation. *Aging*, 13, 10796–10813. <https://doi.org/10.18632/aging.202951>.
- Velechovský, J., Malík, M., Tlustoš, P. (2020): Comparison of Medical Cannabis Nutrition in Hydroponic System: in: Vanek, V., Balik, P, Tlustos, P (eds.): 26th International Conference on Reasonable Use of Fertilizers. Praha.
- Welling, M.T., Liu, L., Shapter, T., Raymond, C.A., King, G. (2016): Characterisation of cannabinoid composition in a diverse *Cannabis sativa* L. germplasm collection. *Euphytica* 208, 463–475. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1585-y>.
- Wogiatzi, E., Gougoulas, N., Giannoulis, K. D., Kamvoukou, C.A. (2019): Effect of Irrigation and Fertilization Levels on Mineral Composition of *Cannabis sativa* L. Leaves. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 47, 1073-1080. <https://doi.org/10.15835/nbha47411527>.
- Xie, X., Hu, W., Fan, X., Chen, H., Tang, M. (2019): Interactions Between Phosphorus, Zinc, and Iron Homeostasis in Nonmycorrhizal and Mycorrhizal Plants. *Front. Plant Sci.* 10:1172. doi: 10.3389/fpls.2019.01172.

- Yamaji, N., Sasaki, A., Xia, J. X., Yokosho, K., Ma, J. F. (2013): A node-based switch for preferential distribution of manganese in rice. *Nat. Commun.* 4:2442. doi: 10.1038/ncomms3442.
- Yep B, Zheng Y. (2020): Potassium and micronutrient fertilizer addition in a mock aquaponic system for drug-type *Cannabis sativa* L. cultivation. *Canadian Journal of Plant Science* 101, 341-352.
- Yruela, I. (2005): Copper in Plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17, 145-156. doi: 10.1590/S1677-04202005000100012.
- Yruela, I. (2009): Copper in Plants: Acquisition, Transport and Interactions. *Functional Plant Biology* 36, 409-430. doi: 10.1071/FP08288.