

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv biostimulantů na tvorbu kanabinoidů a biomasy u  
hydroponicky pěstované Cannabis sativa  
Bakalářská práce**

**Petr-Hugo Jiroušek**

**Zahradnictví**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc., dr. h. c.**

**Odborná konzultantka: Ing. Alexandra Kuklina**

© 2023 ČZU v Praze

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "**Vliv biostimulantů na tvorbu kanabinoidů a biomasy u hydroponicky pěstované Cannabis sativa**" jsem vypracoval(a) samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2023

---

**Petr-Hugo Jiroušek**

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu své bakalářské práce, prof. Ing. Pavlu Tlustošovi, CSc., dr. h. c., za trpělivost, a věcnou zpětnou vazbu. Velké díky patří také Ing. Alexandře Kuklině, za ochotnou pomoc a podporu, kdykoliv jsem ji potřeboval.

# Vliv biostimulantů na tvorbu kanabinoidů a biomasy u hydroponicky pěstované *Cannabis sativa*

## Souhrn

Cílem práce bylo v teoretické části popsat principy a zmapovat znalosti z oblasti hydroponické produkce léčebného konopí a také zhodnotit potenciál využití biostimulantů pro produkci léčebného konopí. V praktické části bylo cílem popsat a vyhodnotit výsledky pokusu pěstování léčebného konopí s využitím huminových kyselin.

V teoretické části práce byla popsána složitá taxonomie a chemotypy rostlin konopí. Dále byla popsána morfologie jednotlivých orgánů a celé rostliny. Byly také popsány sekundární metabolity nacházející se v konopí, procesy jejich vzniku a jejich účinky na lidský organismus.

Část rešerše je zaměřena na principy pěstování konopí, zejména na pěstování hydroponické v kontrolovaném prostředí. Byly popsány nároky rostlin na teplotu, světlo, složení atmosféry a živiny. V rámci popisu principů hydroponie byly vysvětleny základní aktivní i pasivní hydroponické systémy a média v nich používaná. Kromě toho byly vysvětleny úpravy a uchycení rostlin během vegetace, tvorba klonů, sklizeň a posklizňové úpravy. Poslední část rešerše je zaměřena na skupinu látek známých jako biostimulanty. Tyto látky byly rozděleny do skupin dle typu, byl zmíněn jejich původ, jejich účinky a také jejich možný potenciál v budoucnosti pěstování rostlin léčebného konopí.

V praktické části práce byl proveden experiment cílený za zhodnocení vlivu huminových kyselin na produkci biomasy a kanabinoidů. Pokus byl proveden v laboratoři specializované na produkci konopí. Použitý pěstební systém byl průtokový s kapilární aplikací živného roztoku. Rostliny byly pěstované na dvou typech substrátů, kokosovém vlákně a keramzitu, za použití dvou typů živného roztoku. První varianta (A) byla pěstována pouze s použitím základní řady hnojiv, zatímco druhá varianta (Emerald Goddess) byla pěstována s přidavkem doplňku Emerald Goddess, jenž obsahuje huminové kyseliny. V ostatních ohledech byly obě varianty pokusu pěstované za stejných podmínek ve stejném pěstebním prostoru.

Výsledky ukázaly na vyšší výnosy čerstvé biomasy rostlin pěstovaných na kokosovém vlákně a to u obou variant pokusu (varianta A 341,71 g, varianta Emerald Goddess 425,35 g). Tento výsledek je srovnatelný s již dříve vedenými výzkumy zaměřenými na produkci v hydroponických systémech. Vyšší výnosy kanabinoidů v kyselinových formách (kyselina tetrahydrokanabinolová, kyselina kanabidiolová) byly pozorovány u rostlin pěstovaných na keramzitu (varianta A: kyselina tetrahydrokanabinolová 17,67 %, kyselina kanabidiolová 0,15



%; varianta Emerald Goddess: kyselina tetrahydrokanabinolová 18,75 %, kyselina kanabidiolová 0,09 %). Celkový největší výnos kanabinoidů přepočtený na jednu rostlinu byl pozorován u varianty Emerald Goddess na kokosovém vlákne (kyselina tetrahydrokanabinolová 11,05 g, kyselina kanabidiolová 0,11 g). Účinky přípravku Emerald Goddess, potažmo huminových kyselin, byly pozorovány jako pozitivní u většiny zkoumaných parametrů, výjimkou v tomto ohledu je koncentrace kyseliny kanabidiolové (CBDA) u rostlin pěstovaných na keramzitu. Ačkoliv byl pozorován pozitivní vliv přípravku Emerald Goddess na přírůstky biomasy, koncentrace kanabinoidů i celkové výnosy kanabinoidů, tento trend nebyl po statistickém hodnocení průkazný. Účinky huminových kyselin na produkci léčebného konopí byly tedy vyhodnoceny kladně.

Budoucí výzkum by měl být zaměřen na vyšší úrovně koncentrace dodaných huminových kyselin, pro což již existuje precedens z výzkumu Akladious & Mohamed (2018). Vhodné pro evaluaci účinků huminových kyselin by také bylo využití přípravku bez dodatečných živin (N, P, K), které bohužel přípravek Emerald Goddess obsahoval.

**Klíčová slova:** Cannabis sativa, biostimulanty, hydroponie, kanabinoidy, huminové kyseliny

# **The influence of biostimulants on cannabinoid and biomass production in *Cannabis sativa***

## **Summary**

The aim of the theoretical part of the thesis was to describe the principles and map the knowledge in the field of hydroponic production of medicinal cannabis, and also to evaluate the potential of using biostimulants in the production of medicinal cannabis. In the practical part, the aim was to describe and evaluate the results of an experiment on the cultivation of medicinal cannabis using humic acids.

In the theoretical part of the thesis, the complex taxonomy and chemotypes of cannabis plants were described. Furthermore, the morphology of individual plant organs and the whole plant was described. Secondary metabolites found in cannabis, the processes of their formation, and their effects on the human organism were also described.

Part of the research is focused on the principles of cannabis cultivation, especially hydroponic cultivation in a controlled environment. The requirements of the plant for temperature, light, atmospheric composition, and nutrients have been described. Basic active and passive hydroponic systems, and the media used in them, were explained in the context of describing the principles of hydroponics. In addition, plant adjustment and attachment during the growing season, clone formation, harvesting, and post-harvest adjustments were explained. The last part of the review focuses on a group of substances known as biostimulants. These substances have been grouped according to type, their origin, their effects and their possible potential in the future cultivation of medicinal cannabis plants have been mentioned.

In the practical part of the thesis, an experiment was conducted to evaluate the effect of humic acids on the production of biomass and cannabinoids. The experiment was carried out in a laboratory specialized in cannabis production. The cultivation system used was a drain to waste system, with capillary application of nutrient solution. Plants were grown on two types of substrates, coconut fibre and expanded clay, using two types of nutrient solution. The first variant (A) was grown using only the basic range of fertilizers, while the second variant (Emerald Goddess) was grown with the addition of Emerald Goddess supplement containing humic acids. In other aspects, both variants of the experiment were grown under the same conditions in the same growing space.

The results showed higher fresh biomass yield of plants grown on coir for both the experimental treatments (variant A 341.71 g, variant Emerald Goddess 425.35 g). This result

is comparable to previously conducted research on production in hydroponic systems. Higher yields of cannabinoids in acid forms (tetrahydrocannabinolic acid, cannabidiol acid) were observed for plants grown on expanded clay (variant A: tetrahydrocannabinolic acid 17,67 %, cannabidiol acid 0,15 %; variant Emerald Goddess: tetrahydrocannabinolic acid 18,75 %, cannabidiol acid 0,09 %). The highest overall yield of cannabinoids per plant was observed for the Emerald Goddess variant on coir (tetrahydrocannabinolic acid 11,05 g, cannabidiolic acid 0,11 g). The effects of Emerald Goddess, and hence of humic acids, were observed to be positive for most of the parameters examined, the exception being the concentration of cannabidiolic acid in plants grown on expanded clay. Although a positive effect of Emerald Goddess on biomass increments, cannabinoid concentrations, and total cannabinoid yields was observed, this trend was not demonstrable after statistical evaluation. Thus, the effects of humic acids on medicinal cannabis production were evaluated positively.

Future research should focus on higher concentration levels of delivered humic acids, for which there is already precedent from the research of Akladios & Mohamed. It would also be appropriate to evaluate the effects of humic acids using a preparation without the additional nutrients (N, P, K) that Emerald Goddess unfortunately contained.

**Keywords:** Cannabis sativa, biostimulants, hydroponics, cannabinoids, humic acid

# Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>2</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>3</b>
<b>3.1 Botanická charakteristika.....</b>	<b>3</b>
3.1.1 Taxonomie .....	3
3.1.1.1 Chemotypy.....	4
3.1.2 Morfologie .....	4
3.1.2.1 Kořenový systém.....	4
3.1.2.2 Stonek .....	5
3.1.2.3 List.....	5
3.1.2.4 Květ .....	5
3.1.2.5 Plod .....	6
3.1.3 Sekundární metabolity .....	7
3.1.3.1 Kanabinoidy .....	7
3.1.3.2 Terpeny .....	10
3.1.3.3 Flavonoidy.....	10
<b>3.2 Pěstování <i>Cannabis sativa</i> .....</b>	<b>10</b>
3.2.1 Podmínky venkovního pěstování <i>Cannabis sativa</i> .....	11
3.2.2 Indoor pěstování léčebného konopí.....	11
3.2.2.1 Vegetativní množení rostlin.....	12
3.2.2.2 Fotoperiodické rostliny vs samonakvétací rostliny .....	12
3.2.2.3 Uchycení a úprava rostlin během růstu.....	13
3.2.3 Hydroponické pěstování léčebného konopí .....	13
3.2.3.1 Pěstební média .....	14
3.2.3.2 Technika živinové vrstvy .....	14
3.2.3.3 Zaplavovací metoda.....	15
3.2.3.4 Hlubokvodní kultura .....	16
3.2.3.5 Mělkovodní kultura.....	16
3.2.3.6 Kapkové závlahové systémy .....	17
3.2.3.7 Aeroponie .....	17
3.2.4 Zpracování rostlinného materiálu .....	17
3.2.4.1 Sklizeň .....	17

3.2.4.2	Posklizňové úpravy.....	18
3.2.5	Výživa léčebného konopí .....	19
3.2.5.1	Makroprvky .....	19
3.2.5.2	Mikroprvky .....	20
<b>3.3</b>	<b>Biostimulanty .....</b>	<b>21</b>
<b>3.4</b>	<b>Typy biostimulantů.....</b>	<b>21</b>
3.4.1	Huminové a fulvinové kyseliny .....	21
3.4.2	Proteinové hydrolázy .....	22
3.4.3	Extrakty z mořských řas .....	22
3.4.4	Vezikulo-arbuskulární houby .....	23
3.4.5	Houby rodu <i>Trichoderma</i> .....	23
3.4.6	Vliv biostimulantů na pěstování léčebného konopí .....	23
<b>4</b>	<b>Metodika .....</b>	<b>25</b>
<b>4.1</b>	<b>Popis experimentu .....</b>	<b>25</b>
4.1.1	Pěstební prostor .....	25
4.1.2	Podmínky prostředí .....	25
4.1.3	Příprava klonů .....	25
4.1.4	Substrát .....	26
4.1.5	Výživa .....	26
4.1.5.1	CALI PRO GROW/BLOOM A+B.....	26
4.1.5.2	Emerald Goddess .....	27
4.1.6	Sběr rostlinného materiálu .....	27
4.1.7	Určení a stanovení obsahových látek .....	27
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>29</b>
<b>5.1</b>	<b>Výnos čerstvé hmoty .....</b>	<b>29</b>
<b>5.2</b>	<b>Výnos suché hmoty .....</b>	<b>30</b>
<b>5.3</b>	<b>Koncentrace THCA.....</b>	<b>32</b>
<b>5.4</b>	<b>Celkový výnos THCA .....</b>	<b>33</b>
<b>5.5</b>	<b>Koncentrace CBDA.....</b>	<b>34</b>
<b>5.6</b>	<b>Celkový výnos CBDA .....</b>	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>36</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>38</b>
<b>8</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>39</b>



# 1 Úvod

Konopí je rostlina lidmi pěstovaná již tisíce let. Původně bylo konopí v pěstováno jako rostlina na vlákno a na semeno, ale i jako rostlina s léčebnými i psychotropními účinky. Dnes je konopí pěstováno z obou těchto důvodů, ačkoliv na různých úrovních. Konopí na vlákno bývá pěstováno ve venkovních podmínkách jako zemědělská plodina a přispatem státu je vnímáno stejně jako kterákoliv jiná plodina. Konopí pěstované za účelem sklizně květenství je však ošemetná záležitost a to i v případech zamýšleného farmaceutického využití.

Dobré jméno konopí jako rostliny s nespočtem pozitivním účinků z farmaceutického hlediska, a taktěž využití jeho vlákna v textilním průmyslu a semen v potravinářství, bylo neskutečným způsobem poškozeno „válkou na drogy“, započatou Nixonovou administrativou na počátku 70. letech minulého století. Tato „válka na drogy“ však byla zneužita, stala se nástrojem útlaku amerických menšin a „protistátních živilů“. Bohužel však tato rétorika a přístup ke konopí byl převzat celosvětově a výzkum na poli farmaceutického využití sekundárních metabolitů konopí byl značně zpomalen. Stejně jako byl zpomalen farmaceutický výzkum, tak i výzkum v oblasti pěstování konopí v kontrolovaných podmínkách, zaměřený na výnos kanabinoidů, byl značně zpomalen. Mnoho poznatků v tomto odvětví vychází z prakticky získaných zkušeností amatérských pěstitelů, u kterých se však povětšinou nejedná o velké operace. Poznatky, týkající se velkoprodukce konopí v kontrolovaných podmínkách, pocházejí z kruhů ilegálních pěstitelů navázaných činností drogových gangů.

Nyní se však karta obrací a využití konopí ve farmaceutickém průmyslu začíná být postupně přijímáno jako konvenční metoda. Poznatky získané na tomto poli amatéry i z ilegálními kruhy je pro budoucí vývoj potřeba ověřovat a hodnotit i z vědeckého hlediska. Mimo farmaceutický průmysl je také možné sledovat trend legalizace či dekriminlizace, který, ač z jiných důvodů, vyvává tlak na co nejkvalitnější výnosy květenství konopí. V této oblasti je nutno předejít monopolizaci produkce konopí nadnárodními korporacemi, které stejně jako Nixonova administrativa nemají dobrou vůli a jde jim pouze o výtěžek a zvýšení potence produktu, což však nebere v potaz sociální dopad vysokoprocenních psychotropních odrůd konopí.

Rolí odborné komunity je tento tlak na kvalitu i kvantitu výnosu z obou zmíněných odvětví usměrnit vědecky ověřenými postupy a principy. Záměr této práce je tedy stejný: osvětlit některé z částí této oblasti, jako je hydroponické pěstování konopí a zejména využití biostimulantů při jeho produkci.

## **2 Cíl práce**

Cílem bakalářské práce je zmapovat a zhodnotit potenciál využití biostimulantů na pěstování *Cannabis sativa* pro léčebné účely. Výzkum konopí pro léčebné účely je rychle postupující oblastí, ve které jsou nároky na kvalitu i kvantitu produktu stále vyšší. V současnosti jsou biostimulanty perspektivní a málo prozkoumanou skupinou látek, která má velký potenciál uplatnění v tomto odvětví. Biostimulanty mají schopnost kontrolovat rychlost metabolismu látek v rostlinách, podporovat tvorbu biomasy, jejich vliv také zvyšuje klíčivost semen a stabilitu klonování řízků z matečnic. Biostimulanty jsou látky přírodního původu s malou koncentrací účinných látek, svými residui tedy nezatěžují prostředí do té míry jako klasická hnojiva a stimulanty.



## 3 Literární rešerše

### 3.1 Botanická charakteristika

#### 3.1.1 Taxonomie

Historie taxonomického řazení konopí je poměrně složitá a komplikovaná. Konopí se totiž pěstuje již tisíce let a během té doby došlo k jeho širokému rozšíření po celém světě, což vedlo k vzniku mnoha různých odrůd a variant (Small, 2015).

Konopí se řadí do čeledi *Cannabaceae*. Jako první konopí popsal ve svém herbáři v roce 1542 botanik Fusch, který jako první použil název *Cannabis sativa*. (Meyer et al., 1999). Předběhl tak o necelých 200 let Carla von Linné, který ve svém díle *Species Plantarum* popsal konopí jako monotypický rod, tedy rod, který obsahuje pouze jeden druh. Jean-Baptiste Lamarck na základě rozdílů stonku, tvaru listu a květu u exemplářů dovezených z Indie, rozdělil v roce 1785 konopí na dva druhy, *Cannabis sativa* a *Cannabis indica*. (Watts 2006) Třetí druh konopí popsal na začátku 20. století ruský botanik Janischevsky, který tento nový druh popsal na základě divoce rostoucích rostlin konopí na jihovýchodě Ruska. Tyto rostliny se od již popsaných *Cannabis sativa* a *Cannabis indica* lišily menším vzrůstem, tvarem a obalem semen. Janischevsky tyto jedince pojmenoval jako *Cannabis ruderalis* (Watts, 2006).

Současný pohled systematické botaniky na klasifikaci konopí je dvojitý. První dělí konopí na již výše zmíněné druhy. Tento pohled je podpořen chemotaxonomickými analýzami Hilliga a Mahlberga (Hillig & Mahlberg, 2004). Druhý popisuje konopí jako monotypický rod s dalšími poddruhy. Nejvýznamnější v tomto ohledu je dělení navržené Smallem a Conquistem (1976), kteří na základě dvoukrokového systému dělí konopí na čtyři skupiny. Prvním krokem je rozdělení do dvou poddruhů na základě obsahu THC v usušených samičích vrcholových květech. Hranicí pro obsah THC je 0,3 %. Rostliny s obsahem THC nad 0,3 % popisují jako *Cannabis sativa* subsp. *indica*, rostliny s obsahem THC pod 0,3 % jako *Cannabis sativa* subsp. *sativa*. Druhým krokem je rozdělení do odrůd na základě vykazování znaků domestikace. *Cannabis sativa* subsp. *indica* dále dělí na *Cannabis sativa* subsp. *indica* var. *indica* a *Cannabis sativa* subsp. *indica* var. *kafiristanica*. Odrůda *indica* vykazuje domestikované znaky, *kafiristanica* znaky divoké. *Cannabis sativa* subsp. *sativa* dělí na *Cannabis sativa* subsp. *sativa* var. *sativa* a *Cannabis sativa* subsp. *sativa* var. *spontanea*. Odrůda *sativa* vykazuje znaky domestikace, *spontanea* znaky divoké (McPartland, 2018).

S růstem popularity konopí jako kontrakulturní drogy v 60. letech 20. století a současným trendem dekriminlizace a legalizace však vzniká velké množství nových hybridních odrůd. Tyto odrůdy nejsou hybridy F1 generace, ale reprezentují různé stupně stabilizovaného zprostředkování, v podstatě představují všechny stupně variability mezi rodičovskými skupinami. Mnohé z těchto odrůd vznikají v rámci nelegálního drogového obchodu, kde systematická nomenklatura nehraje zásadní roli. Tím vzniká zmatek jak na odborné, tak na ilegální scéně. Small (2015) v reakci navrhuje dvojitý dělení taxonomické klasifikace, jedno v souladu se svou předchozí prací (Small & Cronquist, 1976), druhé určené pro domestikované konopí, vycházející z Mezinárodního kódu nomenklatury kulturních plodin. Toto dělení by konopí dělilo do šesti skupin, dvě ne-narkotické na vlákno a olej a jednu tvořenou jejich hybridy, dále dvě narkotické a jednu tvořenou jejich hybridy.

### 3.1.1.1 Chemotypy

Rostliny konopí můžeme také dělit na základě složení chemického profilu jejich sekundárních metabolitů, kanabidiolu a tetrahydrokanabinolu. První chemotyp je  $\Delta^9$ -THC dominantní, s více než 0,3 %  $\Delta^9$ -THC a méně než 0,5 % CBD. Druhý chemotyp je přechodný, s vysokými obsahy jak  $\Delta^9$ -THC 0,5 % CBD. Třetí chemotyp je CBD dominantní, s méně než 0,3 %  $\Delta^9$ -THC. Tento kvantitativní přístup jde dále rozvinout do měřítka na základě poměru  $\Delta^9$ -THC/CBD. Poměr pro chemotyp 1 je  $\Delta^9$ -THC /CBD > 1, pro chemotyp 2 je  $\Delta^9$ THC  $\approx$  CBD, a pro chemotyp 3 je THC/CBD < 1.

Na základě analýzy fenotypických znaků, které byly hodnoceny pomocí metod korelační analýzy, hierarchického shlukování a analýzy hlavních komponent, byly vyhodnoceny i morfologické rozdíly mezi jednotlivými chemotypy.  $\Delta^9$ -THC dominantní rostliny mají poměr délky/šířky listů  $0.25 \pm 0.03$ , a je pro ně typická temně zelená barva. Pro rostliny s vyváženým poměrem  $\Delta^9$ THC/CBD je typický poměr délky/šířky listů  $0.20 \pm 0.02$ , a odstíny zelené na spektru mezi ostatními chemotypy. Pro CBD dominantní chemotyp byl zjištěn poměr délky/šířky listu  $0.18 \pm 0.02$ , a světle zelená barva. Na základě tohoto výzkumu bylo také zjištěno že rostliny  $\Delta^9$ THC dominantního chemotypu jsou více náchylné k napadení plísní *Botrytis cinerea* (Jin et al., 2021).

### 3.1.2 Morfologie

Konopí je řazeno mezi jednoleté, krátkodenní rostliny. Je převážně dvoudomé, avšak mohou se vzácně vyskytnout jedinci s jednopohlavním květenstvím. Pohlaví jednotlivých rostlin je prakticky nerozeznatelné před počátkem kvetení. Konopí dorůstá až do 5 metrů, typ růstu je vzpřímený. Konopí je cizosprašné a větrosnubné (ElSolhy, 2007).

#### 3.1.2.1 Kořenový systém

Hlavní kořen konopí je kolmý a křivý, dosahující délky až 200 cm. Kořenový systém má pyramidální strukturu, hlavní kořen směřuje přímo dolů, kolmo na něj vyrůstají vedlejší kořeny. Tvar a velikost kořene je podmíněn podmínkami, ve kterých rostlina roste.

V hrubých, dobře propustných půdách vytváří dlouhý hlavní kořen s tenkými vedlejšími kořeny. V půdách, držících vodu, tvoří kratší hlavní kořen s vedlejšími kořeny ve dvou úrovních, těsně pod povrchem a v jednom metru. Ve velmi vlhkých půdách tvoří mělký kořenový systém, připomínající spíše svazčité kořeny travin. Také při pěstování v květináčích dochází k tvorbě husté kořenové sítě místo dlouhého, výrazného hlavního kořenu (Small 2016) Hlavní kořen slouží primárně pro transport vody a může sloužit jako úložiště živin. Po stranách hlavního kořene se nacházejí vlásečnicovité kořínky. Ty mají za úkol přijímat živiny a vodu. Vlasečnicovité kořínky jsou jemné, při nedostatku vody rychle vysychají a umírají, jsou také velmi citlivé na mechanické poškození (Cervantes, 2006).

Správný příjem živin a vody je nezbytnou součástí zdravého růstu rostlin. Pokud není kořenový systém dobře vyvinutý, nemá rostlina schopnost přijímat makroprvky i mikroprvky, které jsou nezbytně nutné pro správný růst i výnosnost. Silný kořenový systém poskytuje rostlině také stabilitu a oproti ostatním rostlinám i konkurenceschopnost. Konopí je v tomto ohledu velmi adaptabilní, jak bylo popsáno v práci Haney & Kutscheid (1975).

Konopí má schopnost vázat těžké kovy nacházející se v půdě, funguje jako stabilizační a imobilizační rostlina, bioakumulátor těžkých kovů. Bengyella et al. (2022) Na základě meta analýzy studií o vztahu těžkých kovů a konopí navrhují, že se tato vlastnost u domestikovaného konopí vyvinula jako adaptace na pedoklimatický stres. Výzkum vedený Singh et al. (2023), zaměřený na společenstva bakteriálních druhů nacházejících se v rhizosféře konopí rostoucích na znečištěných stanovištích, identifikoval čtyři druhy

(*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Achromobacter denitrificans*, *Bacillus subtilis*), které zvyšovaly schopnost vázat těžké kovy a zároveň měly pozitivní vliv na růst rostlin.

### 3.1.2.2 Stonek

Konopným stonkem je silná a přímá lodyha. Průměr stonku se pohybuje od 3 mm do 60 mm. Mladá lodyha je zelená a dužnatá, vyplněná dřevným pletivem. V průběhu vegetace mění barvu na citronově zelenou a dřevnatí. Vlivem podmínek může lodyha až zhnědnout nebo nabývat jiných barev. Na počátku vegetace je lodyha kulatá, v průběhu vegetace se mění na čtyřhrannou nebo šestihdrannou a uprostřed se tvoří dutina. Tato změna se týká vrcholových a středových částí lodyhy. Báze lodyhy zůstává kulatá. Dospělá rostlina má 7–15 internodií. Pokožka je tvořena lýkem z podélných, vzájemně spojených buněk – vláken, jejichž vnější stěny jsou silnější a pokryté kutikulou. Nachází se zde průduchy, jejichž koncentrace je 10–18 na 1cm<sup>2</sup>. Základ lýkové části je tvořen nepravidelnými parenchymatickými buňkami a kolenchymatickými buňkami. Kolenchym dodává stonku pružnost a pevnost. Nejvíce je zastoupen v mladých rostlinách. Sekundární vlákna jsou tvořena činností kambia v dolní části stonku. Dřevnatá část stonku tvoří až dvě třetiny objemu stonku. Skládá se z krátkých libriformních vláken, tvořených sklerenchymatickými buňkami, která podporují stabilitu rostliny. Dřeň proniká zevnitř stonku radiálně v pramenech až ke kambiu (Mioviský, 2008).

### 3.1.2.3 List

Děložní listy jsou dva podlouhlé, směrem od báze se rozšiřují a opadávají brzy po vytvoření prvních pravých listů. Ve většině případů je jeden z děložních lístků větší. Listy mají krátké řapíky, jsou dlanitě složené, 3–11 čtené, s pilovitým okrajem. Na vrcholcích listů jsou celokrajně zašpičatělé. Listy jsou postaveny vstřícně, v květenství je jejich osazení hustější a střídavé. Během dozrávání rostliny žloutnou a opadávají odspodu (Mioviský, 2008). Velká listová plocha umožňuje rostlinám konopí přijímat velké množství fotosynteticky aktivního záření, což konopí umožňuje rychlý růst a tvorbu biomasy. Byl také pozorován vztah mezi velikostí listů a jejich množstvím. Za každé 1 % stoupající intenzity olistění se individuální listová plocha snížila o 0,71 %. (Carlson et al., 2021).

### 3.1.2.4 Květ

Konopí je dvoudomá rostlina, tvoří tedy buď samčí nebo samičí květy na různých rostlinách. V ojedinělých případech mohou vznikat hermafrodité, nesoucí oba druhy květů.

Samičí rostliny mají pestikovitě květenství, husté latnaté hlavy proložené listeny, složené z dvoupouzdrého semeníku s jedním vajíčkem a dvěma nitkovitými bliznami. Samičí květy vznikají v apikálních částech rostliny. Na listenech samičích květů se nacházejí dva druhy žláznatých trichomů – přisedlé a stopkovité. Tyto trichomy mají vyměšovací funkci při produkci kanabinoidů, ale také terpenů a dalších sekundárních metabolitů. Květenství odumírají až po uzrání semen (Petit et al., 2020). V kontrolovaných podmínkách ve skleníku či laboratoři, k úhynu nemusí dojít a rostlina může žít i několik let, avšak se stabilně klesající vitalitou (Small, 2016).

Samčí rostliny mají tyčinkovitě květenství. Vyrůstají v úžlabních latách, každé samčí květenství má 5 tyčinek a 5 žlutozelených květních šupinek (Valíček, 2003). Samci kvetou o 4 až 6 týdnů dříve než samice (Bósca & Karus, 1998) a umírají krátce po kvetení a vypuštění pylu. Během kvetení, za příznivých podmínek, vypouštějí samčí rostliny velké množství pylu, který je roznášen větrem až na vzdálenost 10–12 km (Mioviský, 2008).

Délka dne má zásadní vliv na načasování počátku kvetení. Během dní s fotoperiodou nad 12–14 hodin, je kvetení inhibováno, hraničním faktorem je přechod do krátkodenního režimu

s alespoň 10-12 hodinami nepřetržité tmy (Lisson et al., 2000). Doba kvetení je silně závislá na množství světla a teplotních podmínkách prostředí (Amaducci et al., 2012). Pokud nedojde k přechodu na krátkodenní režim, rostliny zůstávají ve vegetativní fázi až do sklizení (Amaducci et al., 2012). V tomto případě je možná sklizeň pouze biomasy – listů a stonků. Některé kultivary *Cannabis sativa* subsp. *sativa* var. *spontanea*, zejména ty užívané pro produkci kanabinoidů, mohou být popsány jako rostliny neutrální k délce fotoperiody. (McPartland, 2018) Bylo pozorováno i kvetení rostlin při nepřetržité, 24hodinové světelné fotoperiodě (van der Werf et al., 1994).

#### 3.1.2.4.1 Žláznaté trichomy

Žláznaté trichomy konopí jsou mnohobuněčné a vyskytují se pouze na samičích rostlinách, jsou hustě rozšířené na většině orgánů rostliny. Největší koncentrace je na abaxiální straně mladých listů, okvětních listech a ze všeho nejvíce na listenech. Na základě tohoto rozložení by se dalo předpokládat, že tyto žlázy mají ochrannou funkci pro mladé a rozmnožovací nadzemní orgány. Podle délky stopky lze rozlišit tři typy. První typ jsou malé a přisedlé, u kterých je stopka neznatelná a vizuálně nevypadá jako trichom. Druhý a třetí typ se rozlišuje na základě délky stopky a tyto jsou oproti prvnímu typu zřetelně větší. Speciální typ trichomů se nachází na prašnicích. Pro všechny typy platí, že hlavní částí je polokulovitá hlava. Uvnitř této hlavy, na spoji se stopkou, se nachází specializované vyměšovací buňky, nad kterými se nachází nebuněčná dutina (Small, 2016). Shluky jednoho až do dvou tuctů trichomů vylučují skrz vyměšovací buňky aromatickou pryskyřici, která se sbírá ve váčcích v dutině obklopující žláznaté buňky a obsahuje velké množství terpenů a kanabinoidů. Tato membrána odděluje pryskyřici od vlivů atmosféry a membránových enzymů ve žláznatých buňkách. Jinými slovy, chrání ji před oxidační degradací a enzymatickými změnami (ElSolhy, 2007). Pokud dojde k přeplnění dutiny nebo se to stane vlivem vysokých teplot, je možné, že membrána praskne a pryskyřice je vypuštěna na povrch rostliny. Na vrcholku každé stopky, těsně pod polokulovitou hlavou, se nachází abscizní vrstva. U živých rostlin žláznaté hlavy praskají po doteku, ale neoddělují se, jak by se dalo čekat ze zkušenosti s opadavými stromy, které také mají abscizní vrstvu na základně listů. U usušených rostlin naopak hlavy opadávají jen po slabém narušení. Evoluční význam této abscizní vrstvy není v současnosti jasně vysvětlen (Small, 2016).

#### 3.1.2.5 Plod

Plodem konopí je malá jednosemenná vejčitá nažka. Barva může být zelená, šedivá a tmavohnědá, může se vyskytovat tmavé mramorování. Semena dozrávají 3-8 týdnů po začátku kvetení (ElSohly et al., 2017). Hmotnost tisíce semen se pohybuje v rozmezí mezi 8-26 g (Mioviský 2008). Jsou však zaznamenány i extrémní hodnoty HTS a to 0,001g u asijských divoce rostoucích druhů, 66 g u některých kultivovaných rostlin (Watson & Clarke, 1997). V semenech konopí se nachází 35,5 % olejů, 24,8 % bílkovin, 27,6 % sacharidů, 5,6 % popelovin a 27,6 % vlákniny. Mimo to jsou v semenech obsaženy vitamíny A, B1, B2, B6, C a E, z minerálních látek mangan, sodík, hořčík, draslík a železo (Šmirous et al., 2017). Semena jsou šířena zoochoricky, hydrochoricky a antropochoricky. Semena jsou velmi atraktivní pro některé druhy ptáků, existuje tedy šance, že ptáci jsou nejdůležitějšími šířiteli semen konopí. Bylo pozorováno, že semena jsou schopná projít trávicím traktem ptáků a zachovat si schopnost klíčit (Haney & Bazzaz, 1970). Existují také hypotézy, že se semena šíří uchycením na drápech dravých ptáků (Merlin, 1972). Ze savců se uvádějí malí hlodavci, lidé a stáda kopytníků (Small, 2016). Hydrochorie se vyskytuje u divokých rostlin, rostoucích v záplavových oblastech.

Existuje znatelný rozdíl mezi plody divoce rostoucích rostlin a plody rostlin domestikovaných. Domestikované plody bývají větší, chybí jim maskovací krycí vrstva vzniklá z květního obalu a postrádají také prodloužené připojovací báze, které u divokých rostlin umožňují disartikulaci (Small, 2016).

### 3.1.3 Sekundární metabolity

Dle současných dostupných výzkumů (Flores-Sanchez & Verpoorte, 2008) je uváděno, že tkáně konopí obsahují více než 480 chemických sloučenin, mezi které patří fytoKANABINOIDY, flavonoidy, terpeny, terpenoidy, alkaloidy, acetylbenoidy, lignany, a fenolové amidy. Tyto látky řadíme mezi sekundární metabolity, jelikož nejsou přímou součástí procesu růstu a rozmnožování (Babaei et al., 2022).

#### 3.1.3.1 Kanabinoidy

Kanabinoidy jsou skupinou 22 uhlíkových terpenofenolických sekundárních metabolitů (Mechoulam & Gaoni, 1967). Většina rostlinných kanabinoidů je specifická pro konopí, byly však popsány příklady výskytu v rodu *Helichrysum* (Bohlmann & Hoffmann, 1979), i v luštěnině lékořice (*Glycyrrhiza foetida*). V rostlinách konopí jich bylo popsáno více jak 150 sloučenin (ElSohly et al., 2014). Z těchto jsou nejdůležitějšími kanabinoidy  $\Delta^9$ -THC (Tetrahydrokanabinol,  $C_{21}H_{30}O_2$ ), CBD (Kanabidiol,  $C_{21}H_{30}O_2$ ), CBN (Kanabinol,  $C_{21}H_{26}O_2$ ) CBG (Kanabigerol,  $C_{21}H_{32}O_2$ ) a CBND (Kanabinodiol,  $C_{21}H_{26}O_2$ ). Z obrázku 1. je zřejmé, že biosyntéza kanabinoidů je složitý proces. Prvním krokem biosyntézy je vznik kyseliny olivetolové ( $C_{12}H_{16}O_4$ ), jejíž biosyntetická dráha není plně objasněna. Kyselina olivetolová a geranylpyrofosfát ( $C_{10}H_{20}O_7P_2$ ) jsou kondenzovány na geranyl difosfát: olivetolát geranyl transferázou, čímž vzniká kyselina kanabigerolová (CBGA,  $C_{22}H_{32}O_4$ ). CBGA následně slouží jako prekurzor pro vznik kyseliny  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolové (THCA,  $C_{21}H_{30}O_2$ ),  $\Delta^9$ -kanabidiolové kyseliny (CBDA,  $C_{21}H_{30}O_2$ ) a kanabichromenové kyseliny (CBCA,  $C_{22}H_{30}O_4$ ). Ty vznikají za působení tří různých oxidocykláz, syntázy kyseliny  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolové, syntázy kyseliny  $\Delta^9$ -kanabidiolové kyseliny a syntázy kyseliny kanabichromenové (Taura et al., 1996). Z faktu, že biosyntéza kanabinoidů probíhá ve žláznatých trichomech na povrchu rostlin, můžeme vyvozovat, že mají pro rostliny konopí význam jako obranný mechanismus před určitými druhy škůdců. Výzkumy také ukázaly, že v procesu biosyntézy dochází k uvolňování  $H_2O_2$ . Bylo také prokázáno, že kanabinoidy dokáží měnit mitochondriální propustnost v listech a tímto způsobem způsobovat buněčnou smrt (Morimoto et al., 2007).

##### 3.1.3.1.1 Tetrahydrokanabinol (THC)

Tetrahydrokanabinol ( $C_{21}H_{30}O_2$ ) je isoprenoid přirozeně se vyskytující v konopí ve formě kyseliny tetrahydrokanabinolové (THCA), oproti které nemá na benzenovém jádře navázanou karboxylovou skupinu -COOH. Vlivem teploty ( $105^\circ C$ ), sušením a stárnutím kyselina tetrahydrokanabinolová dekarboxyluje, za vzniku  $CO_2$  a  $\Delta^9$ -THC (Small, 2016).

$\Delta^9$ -THC byl poprvé izolován a syntetizován v roce 1964 izraelským chemikem Raphaellem Mechoulamem. Je nerozpustný ve vodě, ale dobře rozpustný v tucích a většině organických rozpouštědel.  $\Delta^9$ -THC je hlavním psychoaktivním komponentem v konopí, a také má mnoho prokazatelných medicínských využití. Má analgetické účinky, (Rahn & Hohmann, 2009), bronchodilatační účinky (Williams et al., 1976), působí jako svalový relaxant (Kavia et al., 2010), antioxidant (Hampson et al., 1998), má pozitivní účinky u pacientů s Alzheimerovou a Parkinsonovou chorobou (Eubanks et al., 2006) a zároveň působí jako stomachikum. Je také využíváno u pacientů s insomnií a anxiety (Russo and Hohmann, 2013).

#### 3.1.3.1.2 Kanabidiol (CBD)

Kanabidiol ( $C_{21}H_{30}O_2$ ) je jeden z hlavních metabolitů ne-psychotropních odrůd konopí. V konopí se vyskytuje ve formě kyseliny kanabidiolové (CBDA), ze které se dekarboxylací mění na kanabidiol. Pokud je kanabidiol vystaven kyselému prostředí, mění se na  $\Delta^9$ -THC, stejné účinky má pyrolýza. Spalováním při kouření k tomuto jevu nedochází. Adams et al. (1940) izolovali kanabidiol roku 1940. Z medicínského hlediska má kanabidiol protizánětlivé, antipsychotické, a anxiolytické účinky. Má také schopnost upravovat metabolismus  $\Delta^9$ -THC blokováním jeho přeměny na psychoaktivnější 11-hydroxy-THC (Russo & Guy, 2006).

#### 3.1.3.1.3 Kanabinol (CBN)

Kanabinol ( $C_{21}H_{26}O_2$ ) byl prvním kannabinolem izolovaným z konopného extraktu na konci 19. století a byl poprvé syntetizován roku 1940 R. Adamsem (Pertwee, 2006). Vzniká postupnou oxidací z  $\Delta^9$ -THC. Má psychoaktivní účinky, avšak zhruba 25% potence  $\Delta^9$ -THC (Piomelli & Russo, 2016). Experimentálně bylo prokázáno, že má antikonvulzivní a protizánětlivé účinky, schopnost podporovat růst kůže a kostí a snižovat frekvenci srdečního tepu (Izzo et al., 2009).

#### 3.1.3.1.4 Kanabigerol (CBG)

Kanabigerol ( $C_{21}H_{32}O_2$ ) vzniká dekarboxylací z kyseliny kanabigerolové (CBGA), proces analogický ke vzniku  $\Delta^9$ -THC. V rostlinách konopí se vyskytuje v koncentracích do 1 %, jelikož je to přímý prekurzor pro vznik kanabidiolu. I přesto, že by se kanabigerol dal označit za „matku kanabinoidů, jeho produkce z konopí je náročná a drahá a z tohoto důvodu jeho potenciál jako léčivo není zdaleka tak významný (Schuetz et al., 2021). Byly zkoumány jeho protizánětlivé a antimikrobiální účinky na kůži s pozitivními výsledky. Mimo to byly popsány sedativní, antidepressivní a antihypertenzní účinky (Small, 2016).

#### 3.1.3.1.5 Kanabinodiol (CBDN)

Kanabinodiol ( $C_{21}H_{26}O_2$ ) je aromatický derivát kanabidiolu. Vzniká rozpadem kanabiolu za působení slunečního záření (Robert J.J.Ch et al., 1977).

#### 3.1.3.1.6 Endokanabinoidní systém

Endokanabinoidní systém lidského těla je endogenní signální systém. Skládá se z kanabinoidních receptorů, endogenních ligandů a enzymů pro tyto ligandy (Rupasinghe et al., 2020). Tento systém byl objeven v roce 1990 a to objevem kanabinoid-1 receptoru (CB1) (Di Marzo & Matias, 2005). Kromě CB1 byl objeven také druhý receptor, CB2. Tyto receptory se nachází jak v hypotalamu, tak v různých tkáních celého těla. Jejich existence vysvětluje mechanismus fungování jak psychotropních (CB1), tak již zmíněných medicínských (CB1, CB2) účinků fytoKANABINOIDŮ, jelikož jsou spojeny s imunitním systémem, míchou, hypofýzou, štítnou žlázou, trávicím traktem, ledvinami, plícemi, srdcem i reprodukčními orgány (Boyd, 2006).



### 3.1.3.2 Terpeny

Terpeny jsou organické sloučeniny, skládající se ze dvou a více jednotek izoprenu ( $C_5H_8$ ), vyskytující se převážně v rostlinách. V rostlinách konopí jsou nejčastěji zastoupeny v podobě monoterpenů ( $C_{10}$ ) a seskviterpenů ( $C_{15}$ ). V závislosti na biotypu rostliny se nachází v poměru 48-92 % monoterpenů a 5-49 % seskviterpenů. (Small, 2017) Bylo identifikováno více než 100 různých terpenů v rostlinách konopí, avšak v jedné rostlině nikdy ne více než 40 (Clarke, 1998). Odlišné obsahy terpenů a s nimi související rostlinné aroma, způsobují značný rozsah v odstínech vůně rostlin.

Terpeny jsou produkovány skrz rozvětvené biosyntetické dráhy kontrolované geneticky určenými enzymy. Při výběru specifických terpenových profilů pro konkrétní medicínské účely poskytuje tato vlastnost šlechtitelům mnoho možností (ElSolhy, 2007). Byly popsány synergetické účinky terpenů a kanabinoidů, vyskytujících se v konopí. Dva nejčastěji se vyskytující terpeny v přírodě: alpha-pinen a limolen, se oba nacházejí v konopí. Další běžně se vyskytující terpeny v konopí jsou myrcen, linalool, beta-caryophylen, nerolidol a fytol. Mezi pozitivní medicínské účinky terpenů můžeme zařadit protizánětlivé (alpha-pinen), antidepresivní (limolen), sedativní (linalool, fytol) a analgetické účinky (myrcen) (Small, 2017).

Terpeny, stejně jako kanabinoidy, vznikají v hlavách žláznatých trichomů na povrchu rostliny. Biosyntéza terpenů začíná u isopentylpyrofosfátu ( $C_5H_{12}O_7P_2$ ), kdy jedna nebo více molekul společně s jeho izomerem dimethylallylpyrofosfátem ( $C_5H_{12}O_7P_2$ ) z kondenzují za působení prenyl-transferáz do geranylpyrofosfátu ( $C_{10}H_{20}O_7P_2$ ) nebo farnesylpyrofosfátu ( $C_{15}H_{28}O_7P_2$ ). Působením specifických terpensyntáz vznikají z geranylpyrofosfátu monoterpeny, z farnesylpyrofosfátu seskviterpeny a z farnesylpyrofosfátu v kombinaci s isopentylpyrofosfátem vznikají diterpeny.

### 3.1.3.3 Flavonoidy

Flavonoidy nebo také bioflavonoidy spadají mezi polyfenoly, aromatické sloučeniny s OH skupinou. V rostlinách konopí bylo identifikováno 23 běžně se vyskytujících flavonoidů. Cannflavin A a B jsou pro konopí unikátní (ElSolhy, 2007). V rostlinách konopí byly zaznamenány v listech, stonku, pylu i květech, na žláznatých trichomech, kde jsou produkovány kanabinoidy, však jejich přítomnost zaznamenána nebyla (Ross et al., 2005). Bylo prokázáno, že fenoly fungují jako efektivní antioxidanty a často mají další příznivé fyziologické vlastnosti, jako je kardioprotekce a protizánětlivost. Jsou také hypotézy, které předpokládají, že flavonoidy mají stejně jako terpeny synergický efekt s kanabinoidy (Small, 2016).

## 3.2 Pěstování *Cannabis sativa*

Rostliny konopí se dají úspěšně pěstovat jak ve venkovních, tak v indoor podmínkách, obecně jsou velmi přizpůsobivé klimatickým i půdním podmínkám. Dle účelu pěstování jsou vyžadovány různé předpoklady pro růst: jiné podmínky potřebuje konopí na vlákno a jiné na semeno nebo květ. Hlavním rozdílem je, kolik pěstebních cyklů je možné zrealizovat za jeden rok. Ve venkovních podmínkách je pěstování limitováno nízkými teplotami a nedostatkem světla v zimních měsících, za rok je tedy možný pouze jeden vegetační cyklus. Oproti tomu v indoor pěstírnách je díky fototechnice možné ovládat fotoperiodu a tedy i délku vegetační doby a počátek kvetení. To znamená že v indoor podmínkách je možné zvládnout až čtyři vegetační cykly za rok (ElSohly et al., 2017).



Ve většině případů probíhá kultivace konopí pro výrobu vlákna, semen a biomasy ve venkovních podmínkách, zatímco pěstování konopí pro léčebné účely probíhá v indoor kontrolovatelných podmínkách.

Pěstování konopí je upraveno zákonem č. 167/1998 Sb. o návykových látkách. Existuje seznam povolených odrůd pěstovaných pro technické účely v Evropské unii, na tomto seznamu se nachází 55 odrůd. Hladina  $\Delta^9\text{THC}$  nesmí u rostlin pěstovaných za účelem vlákna, semen či biomasy překročit 1 %. Pěstování konopí pro léčebné účely upravuje Vyhláška č. 235/2022 Sb., o pěstování a zpracování rostlin konopí pro léčebné použití a je k němu třeba licence.

### 3.2.1 Podmínky venkovního pěstování *Cannabis sativa*

Pro růst konopí je nutná teplota vzduchu nad 1°C, optimální teplota se pohybuje okolo 29°C, teplotní strop se nachází na 41°C. Kumulovaná teplota, která je nutná pro ukončení vegetativní fáze a pro začátek kvetení, je v rozsahu 306-636 °C. Během této periody nesmí teplota klesnout pod 1°C (Petit et al., 2020).

V první fázi růstu, kdy si rostlina tvoří kořenový systém, vyžaduje dostatek vláhy a nevysychavou půdu. Po vytvoření silného kořenového systému je již rostlina schopna brát vodu z větších hloubek a není tedy tak náchylná k vysychání (Sladký, 2004). Pro vytvoření jednoho kilogramu sušiny spotřebuje rostlina konopí 700kg vody (Miovský, 2008). Půda by měla být provzdušněná, s půdní reakcí v rozmezí pH 6 – 7,5. Nejvíce prosperuje na hlinitých až hlinitopísčítých půdách (Šmirous et al. 2017).

### 3.2.2 Indoor pěstování léčebného konopí

Pěstování konopí v kontrolovaných podmínkách umožňuje kompletní kontrolu nad rostlinným životním cyklem, což nám pomáhá řídit kvalitu a kvantitu výsledné biomasy. Indoor pěstování má z tohoto důvodu velké využití při pěstování konopí se specifickým chemickým profilem pro farmaceutické účely (ElSohly et al., 2017). Ve většině případů se v indoor podmínkách pěstují pouze samičí rostliny. To zamezuje opylení samci a na samicích nevznikají semena. Absence semen zvyšuje následnou kvantitu a kvalitu květů z hlediska obsahových látek.

Konopí vyžaduje vysokou hustotu fotosyntetického toku fotonů (PPFD). PPFD popisuje intenzitu záření. Vliv vztahu PPFD na rychlost fotosyntetických procesů je provázán s teplotou prostředí. Bylo zjištěno, že při nižších teplotách (20-25 °C) má stoupající hodnota PPFD (500-2000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) pozitivní vliv na rychlost fotosyntézy. Při teplotě 30°C dosahuje rychlost fotosyntézy maxima při hodnotách PPFD 1500  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , po přesažení této hranice PPFD rychlost fotosyntézy klesá. (Chandra et al., 2008). Hustota PPFD je závislá na typu a množství využitého osvětlení. Pro osvětlení mohou být použity různé zdroje, fluorescenční zářivky pro množení řízků, halogenové výbojky a vysokotlaké sodíkové výbojky pro dospělé rostliny. Je vhodné používat samostatné předřadníky pro halogenové a sodíkové výbojky. Světla by se měla nacházet alespoň 1 metr od rostlin, aby nedocházelo k přesvícení a spálení. Pro zvýšení efektivity osvětlení je možné využívat reflektivní odrazové plochy v okolí světel. Pro jejich správné využití je třeba využít odrazovou plochu k disperzi světla, ne k zacílení do jednoho místa. Správně nainstalovaná reflexní plocha může bez zvýšení nákladů zlepšit efektivitu světel až dvojnásobně (Cervantes 2006).

Požadovaná vzdušná vlhkost uvnitř pěstební místnosti se v průběhu vegetace mění.

Vegetativní řízků, dokud nejsou dostatečně zakořeněné, vyžadují pravidelné mlžení pro udržení vysoké vzdušné vlhkosti – 70-75 %. Alternativou pro řízků jsou uzavřené pěstební boxy s průduchy, které si drží vlastní mikroklima. Rostliny v průběhu vegetativní i kvetoucí fáze růstu požadují vzdušnou vlhkost v rozmezí 55-60 % (ElSohly et al., 2017).

Proudění vzduchu je dalším důležitým faktorem pro indoor pěstování. Pro správnou výměnu plynů a vodních výparů mezi rostlinami a prostředím je třeba zajistit proudění vzduchu v okolí povrchu listů. K tomuto účelu můžou sloužit elektrické ventilátory. Ke zlepšení celkového růstu lze přispět i zvýšením ambientní koncentrace CO<sub>2</sub> z 350 μmol mol<sup>-1</sup> na hladinu CO<sub>2</sub> 750 μmol mol<sup>-1</sup>. Bylo zjištěno, že takové zvýšení stimuluje rychlost průběhu fotosyntetických procesů až od 50 % a efektivitu využití vody až od 111 %. Úroveň CO<sub>2</sub> je možné upravovat pouštěním čistého CO<sub>2</sub> z tlakových lahví do pěstební místnosti, či využitím generátorů CO<sub>2</sub>. Existují také metanové hořáky, které spalováním uvolňují CO<sub>2</sub>. Ve všech těchto případech je nutné kontrolovat hladinu CO<sub>2</sub> použitím CO<sub>2</sub> monitoru. Je možné také využít komplexní atmosférické jednotky schopné měřit i upravovat hladinu plynů najednou. (Chandra et al., 2008).

### 3.2.2.1 Vegetativní množení rostlin

Matečnice jsou vybrané samičí rostliny užívané pro množení řízky. Je nutné, aby se udržovaly ve vegetativní fázi růstu alespoň 18hodinovou fotoperiodou. Z logiky věci je důležité udržovat matečnice v jiné než pěstební místnosti. Za ideálních podmínek, pokud není rostlina napadena viry a jinými patogeny, neztrácí na vitalitě a je možné jednu matečnici pěstovat až 20 let (ElSohly, 2007). Pokud toto není dodrženo, matečnice začíná kvést a její funkčnost je ztracena.

Výběr matečnice obecně záleží na účelu pěstování, posuzuje se rychlost růstu, stavba rostliny, profil obsahových látek, stabilita klonů. Existují dva hlavní efektivní způsoby vegetativního množení konopí a to v zemině nebo ve vodě. Pro množení v zemině se odebírají apikální řízky, řez se provádí pod úhlem 45° těsně pod pupenem a řízky jsou okamžitě smočeny v destilované vodě. Poté se na báze řízků aplikuje kořenový stimulant a tyto jsou zasazeny do květináčů 5x5 cm obsahujících směs kokosových vláken a sterilní sázecí směsi. Pro dobré zakořenění by měl být alespoň jeden pupen pod povrchem zeminy. Zakořenění tímto způsobem trvá dva až tři týdny. Pro množení řízků ve „vodě“ jsou řízky zapíchnuty do rockwoolových kostek.

Výhodou vegetativního množení je uniformita vlastností vzniklých rostlin, stabilní výnos, dají se předpokládat i stejné reakce na vlivy prostředí a v neposlední řadě je rostlina schopna začít kvést prakticky ihned po zakořenění (ElSohly, 2017). Toho je možné docílit přesazením 10-30 cm velkých řízků a přesunutím do pěstební místnosti s délkou dne 10-13 hodin. Za takových podmínek jsou řízky schopné dozrát již během 7 týdnů (ElSohly, 2007).

Vegetativně produkované rostliny bývají malého růstu - do jednoho metru, s květy odspoda až po vrchol. Vizually připomínají zakořeněnou větev generativně množené rostliny. Za ideálních podmínek a správné péče o rostliny mohou dosahovat výnosů až 400 g/m<sup>2</sup> za vegetační cyklus.

### 3.2.2.2 Fotoperiodické rostliny vs samonakvétací rostliny

V kapitole květ bylo zmíněno, že konopí je primárně krátkodenní rostlinou. Konopí je přirozeně krátkodenní rostlina, jak již bylo zmíněno v kapitole květ (3.1.2.4). Některé odrůdy konopí mají však schopnost kvést nezávisle na délce fotoperiody. Označují se jako fotoperiodicky neutrální, samonakvétací. Tento jev se v přírodě dá pozorovat u rostlin rostoucích na rovníku a v nejsevernějších oblastech výskytu (Small, 2016). Hybridizací rostlin s touto vlastností, často označovaných jako *Cannabis ruderalis*, byla fotoperiodická neutralita přenesena i na rostliny s vysokým obsahem Δ<sup>9</sup>-THC (Gloss, 2015).

Samonakvétací rostliny mohou být velmi užitečné pro indoor pěstování, jelikož je lze pěstovat pod nepřetržitým osvětlením, což vyvolává větší a rychlejší růst. Brzy kvetoucí

odrůdy mohou být zvláště vhodné pro plnění produkčních plánů (Small, 2016). Velkou nevýhodou u samonakvétacích odrůd je naproti tomu nemožnost vegetativního množení. Vlastnost samonakvétání je platná i u odebraných řízků, které mohou začít kvést ihned po odebrání. Kvůli dělbě energie to vede k vytvoření slabého kořenového systému. Malý kořenový systém vede k zpomalenému růstu a nižšímu obsahu sekundárních metabolitů. Samonakvétací odrůdy jsou tedy ve většině případů množeny generativně ze semen, což vede k nestálé kvalitě i kvantitě výnosů (Manjutah, 2023).

### 3.2.2.3 Uchycení a úprava rostlin během růstu

Konopí se často pěstuje za využití technik, které mění jeho morfologii. Jedná se o oříznutí hlavního stonku, zbavování se vedlejších výhonů nebo částečná i celková defoliace. Cílem těchto zásahů je zlepšit celkový růst výhonů a vést je do požadovaného tvaru či velikosti. Zastřížení hlavního stonku, známé též jako „topping“, je technika využívaná ke zvýšení výnosu květenství (Verna & Shukla, 2015). Jedná se o odebrání apikálního meristému stonku, což vede k porušení apikální dominance. Odběr apikálního meristému způsobí fytohormonální dysbalanci auxinu a cytokininu, který stimuluje růst postranních výhonů. Analogickou technikou k „toppingu“ je „fimming“, při kterém je odebrána pouze část apikálního meristému stonku.

Odlíštění a odebrání vedlejších výhonů ve spodní třetině rostliny je technika známá jako „lollipoping“. Tato technika má za cíl přeměrovat zdroje rostliny do vrcholových květenství. Také zlepšuje proudění vzduchu a snižuje riziko napadení škůdci (Trancoso et al., 2022). Bylo zjištěno, že defoliace tři týdny před sklizní a odběr třetiny listů a výhonů při přechodu do kvetoucí fáze, zvýšilo oproti kontrolní skupině koncentrace CBDA, THCA, CBDVA a TCHVA. Bylo také zjištěno, že dvojí prořezávání ve vegetační fázi zvyšuje výnos květenství a koncentraci fytoKANABINOIDŮ (CBDA 59 %, CBDVA 61 %, THCA 50 %, TCHVA 53 %, CBCA 59 %) (Danziger & Bernstein, 2021).

Mezi široce rozšířené techniky využívané při pěstování konopí se řadí také ScroG (Screen of Green) a SoG (Sea of Green).

ScroG je široce využívaná technika při pěstování konopí v indoor podmínkách. Jedná se o využití napnuté sítě pro podporu jednotlivých výhonů, což umožňuje tvorbu jednotné vrstvy korun rostlin. Během vegetativní fáze jsou rostliny vedeny skrz síť, dokud ji rovnoměrně nezaplňují. V momentě, kdy je síť zaplněna, je indukováno kvetení přechodem na krátkodenní režim (Green, 2017). Tato technika umožňuje rovnoměrný dopad světla na většinu rostliny. Při normálním růstu spodní výhony strádají a tím pádem mají menší obsah sekundárních metabolitů.

SoG je metoda založená na vysoké hustotě pěstovaných rostlin na m<sup>2</sup>. Rostliny jsou zasazeny v hlubokých a úzkých nádobách. Rostlinám jsou v průběhu vegetativní fáze prořezávány vedlejší výhony. Cílem této techniky je zrychlit vegetativní fázi a zajistit co nejčasnější kvetení. Při využití SoG mají jednotlivé rostliny menší výnosy, to však překonává větší výnosnost na m<sup>2</sup> (Crispim Massuela et al., 2022). Absence vedlejších výhonů také ulehčuje posklizňové zpracování, které jde jednodušeji automatizovat.

### 3.2.3 Hydroponické pěstování léčebného konopí

Hydroponické pěstování konopí je technika pěstování za využití inertních substrátů, zatímco živiny jsou dodávány rozpuštěné ve vodě (Malík et al., 2021). V hydroponických systémech je možné kontrolovat a upravovat výživu na optimální úroveň. Je obecně přijímáno, že s jednoduchým přístupem k živinám a vodě rostliny rostou rychleji a mají větší výnosy. Toto však zatím nebylo experimentálně potvrzeno. Hydroponické systémy jsou komplexní a

vyžadují stálý přísun vody, elektřiny, živin a specializovaného vybavení, které je náchylné k opotřebení a ucpávání (Jin et al., 2019).

Dělí se na aktivní a pasivní, hlavním rozdílem je využití pump k přísunu vody u aktivních systémů. Pasivní systémy fungují na principu kapilární elevace, využívají polyesterové a nylonové „knoty“ pro přísun živného roztoku ke kořenům a nevyžadují přísun elektřiny, pumpy, ani vzduchovadla. Neobsahují pohyblivé části ani složitou techniku, které by mohly být opotřebeny nebo rozbity (Cervantes 2006). Jsou vhodné pro malé rostliny, či rostliny nenáročné na vodu (Rani et al., 2022). Aktivní systémy jsou efektivnější a produktivnější. Ve většině případů se jedná o uzavřené systémy, u kterých se nevyužitý živný roztok vrací do zásobníku a je znovu použit. Jsou využitelné ve velkém měřítku, je možné je kontrolovat přesně dle potřeb rostlin, díky moderním technologiím je také možná automatizace celého systému.

### 3.2.3.1 Pěstební média

Pro hydroponické pěstování se využívají inertní média. Ta sama o sobě neobsahují žádné živiny ani minerály. Typickými zástupci jsou rockwool, perlit, vermikulit, kokosové vlákno a keramzit.

Rockwool je lehké sterilní pěstební médium ve formě kostek. Je složeno z čedičových vláken. Hodnota pH se pohybuje okolo 7,5. Dokáže udržet až desetkrát více vody než půda.

Rockwool také umožňuje skvělý přístup vzduchu. Je náchylné k růstu řas na jeho odhalených plochách, ve většině případů však nebývají škodlivé (Mel, 2012).

Perlit je amorfni granulované pěstební médium. Skládá se z expandovaného vulkanického skla produkovaného za vysokých teplot. Má skvělé retenční schopnosti pro vodu i vzduch. Je možné opakované využití, avšak je nutné ho vyčistit od zbytků kořenů, což je pracné. Perlit je velmi lehký, v hydroponických systémech může být vyplavován, je proto vhodné ho zatížit jiným materiálem. Stejně jako rockwool je náchylný k růstu řas, doporučuje se překrýt vrchní vrstvu propustnou folií.

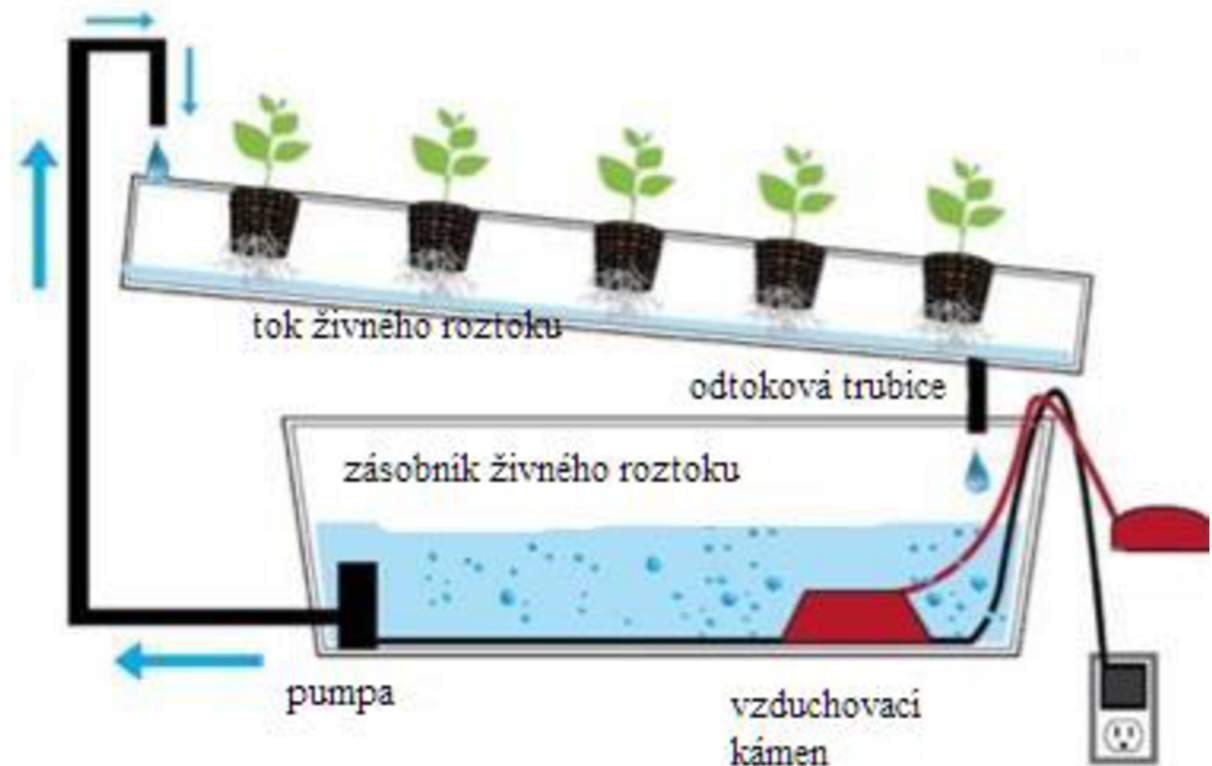
Vermikulit je minerál  $((Mg,Fe,Al)_3(Al,Si)_4O_{10}(OH)_2 \cdot 4(H_2O))$  využívaný jako pěstební médium pro svou schopnost absorpce a retence vody a živin. Je hojně využíván pro pasivní hydroponické systémy, kde se používá jako spodní vrstva média. U vermikulitu nastávají situace, kdy je přesycený vodou, je tedy vhodné ho využívat v kombinaci s dalšími materiály. Je vhodný pro klíčení semen.

Kokosové vlákno se získává z kůry plodů *Cocos nucifera*. Pro hydroponické systémy je vhodné používat hrubší kokosová vlákna. Jemnější, nejčastěji využívaná jako přísada do substrátu, nedrží tak dobře vodu a mají větší obsah sodíku. Dokáže udržet více vody i vzduchu než rockwool a perlit. Výhodou kokosového vlákna je jeho původ, který je kompletně organický. Nejlépe funguje v kombinaci s dalšími médii, například s keramzitem. Keramzit je lehké, porózní, pH neutrální pěstební médium ve formě kuliček. Je vhodný pro využití v aktivních hydroponických systémech. Nejčastěji je používán ve velikosti od 8 mm do 16 mm. Jeho velkou výhodou je opakované využití, jednoduché čištění a trvanlivost (Mel, 2012).

### 3.2.3.2 Technika živinové vrstvy

NFT (nutrient film technique) metoda hydroponického pěstování je založena na neustálé recirkulaci živného roztoku okolo kořenů rostliny. Je třeba pouze tenká, 2-3 mm vrstva roztoku. Rostliny jsou pěstovány na mírně nakloněné podložce, která je na nižším konci připojena k zásobníku. Zobrazeno na obrázku č. 2. V zásobníku se nachází pumpa, která systémem trubek žene živný roztok na vrchol tácu, odkud roztok působením gravitace stéká

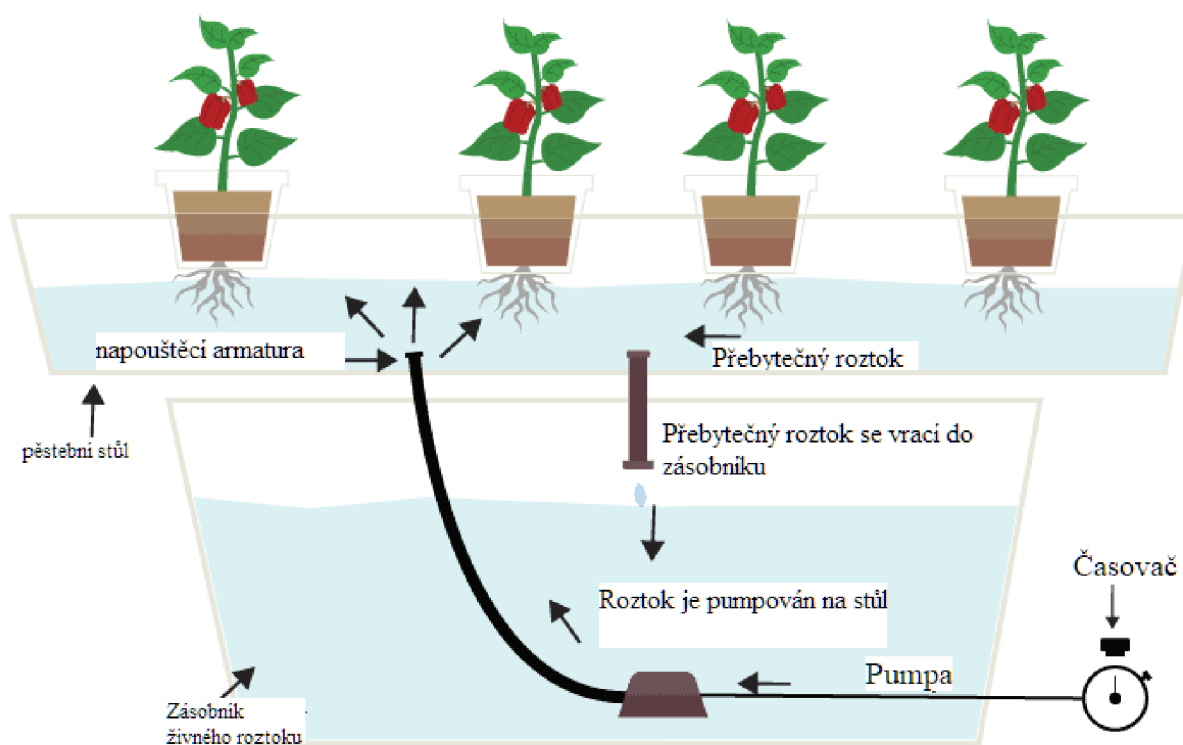
kolem rostlin zpět do zásobníku. V zásobníku se také musí nacházet vzduchovací kámen, který do roztoku dodává kyslík. Plocha podložky je vyložena kapilární rohoží, která zajišťuje rovnoměrné rozdělení živin mezi rostlinami. Rostliny jsou usazeny v košíčkových květináčích postavených na kapilární rohoži (Mel, 2012). Tento systém může fungovat i jako několika úrovněový. Jednotlivé vrstvy se nachází nad sebou a jsou propojeny systémem trubek. Princip fungování zůstává stejný. NFT systém je relativně nenáročný, ale je náchylný k ucpávání (Resh, 2022).



Obrázek 2.: Schéma systému živinové vrstvy, Gonçalves PJS. 2015. An automatic mechanical system for hydroponics fodder production. Available at [https://www.researchgate.net/figure/NFT-hydroponic-system\\_fig1\\_286469467](https://www.researchgate.net/figure/NFT-hydroponic-system_fig1_286469467)

### 3.2.3.3 Zaplavovací metoda

FaD (Flow and Drain), také známý jako „Ebb and Flow“ je systém, ve kterém rostliny na rozdíl od ostatních systémů nejsou v konstantním kontaktu s vodou. Místo toho jsou každé 2-3 hodiny zaplaveny živným roztokem. Rostliny jsou pěstovány na stolech s vysokými okraji. Jednotlivé rostliny jsou v košíčkových květináčích s keramzitem nebo pouze v rockwoolových kostkách. Je také možné zaplnit stůl keramzitem a sázet rostliny přímo do něj. Pod stolem se nachází zásobník s živným roztokem, který je se stolem propojený trubkou. V zásobníku se také nachází pumpa a vzduchovací kámen. Pumpa je nastavena na časovač. Pumpa žene živný roztok ze zásobníku na stůl, kde postupně stoupá hladina. Když pumpa přestane hnát živný roztok na stůl, rostlinami nepřijatý zbytek je vypuštěn zpět do zásobníku. Odtok živného roztoku působením podtlaku vtahuje vzduch do pěstebního média, což zajišťuje dostatečné okysličení kořenů. Velmi důležité je, aby se stůl nacházel v rovině, v opačném případě není zajištěno rovnoměrné rozdělení živin mezi jednotlivými rostlinami. FaD systémy jsou nenáročné na údržbu (Mel, 2012).



Obrázek 3.: Schéma zaplavovací metody, Staff Tcom. 2022. Ebb & Flow (Flood and Drain) Hydroponic System Ebb & Flow (Flood and Drain) Hydroponic System. Available at <https://www.trees.com/gardening-and-landscaping/ebb-and-flow-hydroponics>

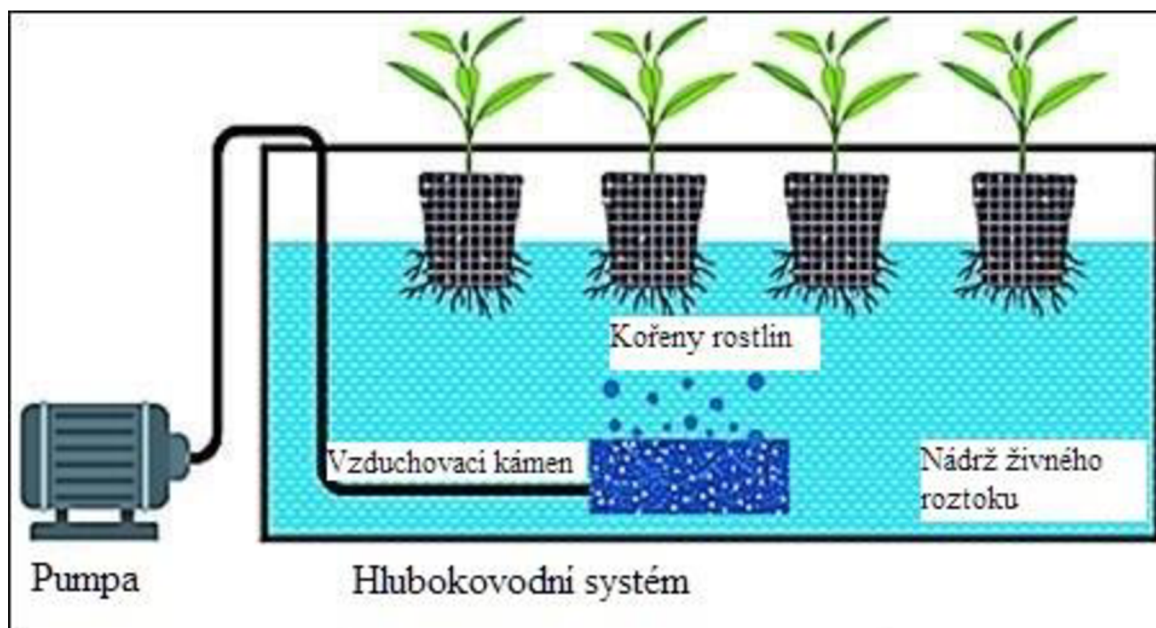
#### 3.2.3.4 Hlubokovodní kultura

DWC (Deep water culture) systém je relativně jednoduchým hydroponickým systémem, vyobrazený je na obrázku č. 4. Rostliny jsou pěstované ve velkých nádobách, vsazené do košíků ve víku nádoby. V jedné nádobě může být jedna, ale i více rostlin. Nádoba by měla mít objem minimálně 20 l. Stěny nádoby by neměly být propustné pro světlo, aby se zamezilo růstu řas a plísní (Rani et al., 2022). Živný roztok se nachází uvnitř nádoby, jeho hladina by měla sahát až ke kořenům rostliny. Živný roztok je u DWC systému pouze 1/3 své normální dávky. Kořeny rostlin jsou ponořeny v živném roztoku. Kyslík je kořenům dodáván skrz vzduchovací kámen, ten také míší vodu a je důležité, aby se nacházel na dně (Mel, 2012).

#### 3.2.3.5 Mělkovodní kultura

SWC (shallow water culture), někdy také označováno jako „bubbleponics“, je technika hydroponického pěstování, při které kořeny rostlin leží v mělké nádobě nebo misce. Rostlina je usazena v malém košíkovém květináči spojeném s víkem nádoby. Kořeny rostliny sahají do roztoku. Živný roztok je 15–25 cm hluboký. Důležitou součástí je vzduchovací kámen, který dodává kořenům kyslík a tím také udržuje živný roztok od stagnace. Cílem by mělo být vytvoření roztoku, který nemusí být nutně tekutý, ale spíše šumivý, kde je rozpuštěný kyslík přesycený. Jemné bublinky podporují růst vláknitých kořínků a mají menší šanci kořeny poškodit. Vyšší koncentrace kyslíku také zlepšuje příjem živin kořeny a zamezuje růst anaerobních patogenů jako je například kořenová hniloba *Pythium*. Živný roztok je třeba měnit alespoň jednou za 10 dní. Tato technika je často užívaná pro hydroponické vegetativní rozmnožování a také pro mladé rostliny se slabým kořenovým systémem (Chamberlain, 2019).





Obrázek 4.: Schéma hlubokovodní kultury, Bhagawati R, Shantonu P, Dambale AS. 2020. Deep water culture system of hydroponics. Available at [https://www.researchgate.net/figure/Deep-water-culture-system-of-hydroponics\\_fig1\\_348003824](https://www.researchgate.net/figure/Deep-water-culture-system-of-hydroponics_fig1_348003824)

### 3.2.3.6 Kapkové závlahové systémy

Kapkové závlahové systémy jsou velmi populární mezi pěstiteli. Umožňují přísun přesného množství živného roztoku přímo ke kořenům rostliny (Rani et al., 2022). Rostliny jsou pěstovány v květináčích plněných vysoce absorpčním médiem. Ty jsou postaveny na pěstebním stole s odvodnými kanálky. Ke každé rostlině je zavedena trubička, která je zakončena jehlou. Jehla by se měla nacházet co nejbližší kořenům rostliny. Jednotlivé trubičky jsou na druhém konci spojeny s větší hadicí a ta vede do zásobníku živného roztoku. V nádobě s živným roztokem se nachází pumpa, která může fungovat konstantně, či v nastavených intervalech. Kapkové systémy se dělí na otevřené a uzavřené. Otevřené systémy jsou takové, kde přebytečná voda odtéká skrz kanálky na stole do odpadu. Otevřené systémy jsou velmi finančně náročné. V uzavřeném systému přebytečný živný roztok stéká skrz nálevku zpět do zásobníku a je využit znovu. Velkou nevýhodou kapkových systémů je náchylnost k ucpávání jednotlivých trubiček. Výhodou je postupný příjem živin v malém množství (Mel, 2012).

### 3.2.3.7 Aeroponie

Aeroponie je technika pěstování rostlin bez substrátu. Rostliny jsou usazeny v podpůrné nádobě s kořeny visícími v prostoru. Živiny jsou přijímány skrz živné mlžení. Tato technika je spíše využívána pro laboratorní studium rostlinné fyziologie než pro komerční a medicínskou produkci. Existuje také využití aeroponických systémů pro vegetativní rozmnožování rostlin (Resh, 2022).

## 3.2.4 Zpracování rostlinného materiálu

### 3.2.4.1 Sklizeň

V průběhu vegetační fáze i během kvetení se obsahy sekundárních metabolitů výrazně mění. Sklizeň musí z tohoto důvodu být perfektně načasována pro optimalizaci kvantity i kvality

výnosu. Doba sklizně tedy přímo ovlivňuje výsledný chemický profil. (Jin et al., 2019) Pro určení ideálního času sklizně jsou využívány dva typy metod. Cracker et al. využíval pro určení doby sklizně každodenní kontroly koncentrace THCA surových vzorků. Pro tyto účely je využívána metoda chromatografie na tenké skvrně (TLC) a vysokovýkonná chromatografie na tenké skvrně (HPTLC) (Cracker et al., 2014). Chemická analýza je destruktivní metoda, je časově i finančně náročná, oproti tomu vizuální hodnocení určuje čas sklizně bez narušení rostlin (Jin et al., 2019). Existují čtyři různé parametry, podle kterých se dá vizuálně určit čas sklizně. Prvním je procento senescence u pestíků. Měly by být zhnědlé, procento vhodné pro sklizeň je 75 %. Druhým je tvrdost/pevnost květenství. Pevné/tvrde květenství při zmáčknutí naznačuje dostatečnou míru zralosti. Třetím parametrem je zbarvení žláznatých trichomů. Trichomy během kvetoucí fáze mění barvu z jantarové na mlžně bílou. Sklizeň by měla nastat ve chvíli, kdy alespoň třetina trichomů změnila barvu. Čtvrtým faktorem je vůně, jež dosahuje největší výraznosti v době plné zralosti. Rostlina by měla být jasně cítit unikátním a odrůdově specifickým zápachem/aromatem. Tyto parametry je možné libovolně kombinovat (Cracker et al. 2014).

Všechny části rostliny konopí nedozrávají ve stejný čas. Směrem k základně rostliny se vyskytují mladší, nedozrálá květenství, naopak na vrcholu rostliny dozrávají jako první. Ke konci fáze kvetení růst rostliny značně zpomaluje a na květenstvích se již nevytvářejí nové kvítky.

Existují dvě hlavní metody sklizně rostlin konopí. Sklizení selektivní (jednotlivá květenství a jednotlivé výhony) nebo sklizeň celé rostliny. Při selektivním sklizení jsou jako první sklížena vrcholová květenství a výhony. Spodní výhony jsou ponechány na rostlině do té doby, než dozrají. Obecně by mezi jednotlivými částmi selektivní sklizně neměl sběr trvat déle než deset dní. Sklizeň má čtyři základní kroky. Stříh stonků s květenstvími z rostliny, stříh květenství od stonků, odstranění velkých listů z květenství a odstranění menších listů z květenství (Cracker et al., 2014). Při sklizni celé rostliny se rostlina ustříhne pod nejspodnějším výhonem a v sušící místnosti je celá pověšena vrcholem dolů. Při věšení je možné odstranit velké listy (Small, 2016).

#### 3.2.4.2 Posklizňové úpravy

Prvním krokem posklizňových úprav je „trimming“. Jedná se o očištění květenství od listenů, drobných listů, uschlých listů a stonků. Ideálním časem na „trimming“ je těsně po sklizni, kdy jsou trichomy ještě měkké a poddajné. S postupem času křehnou. „Trimming“ může být prováděn manuálně nebo strojově rotační rezačkou. Specifickou metodou je použití husté sítě (100 vláken na 2,5 cm<sup>2</sup>), skrz kterou jsou květenství přesívána pouze za účelem sběru trichomů. Takto získaný produkt se nazývá „kief“, má velmi vysokou koncentraci sekundárních metabolitů a prakticky žádný přebytečný organický materiál (Cracker et al., 2014).

Uvádí se, že čerstvě sklizený konopný materiál má 78-80 % vlhkosti. Druhým krokem posklizňové úpravy bývá sušení. Výsledná vlhkost rostlinného materiálu by se měla pohybovat mezi 5-10 % (Jin et al., 2019). V žádném případě není možné provádět sušení rostlin na zemi, či za přítomnosti slunečního záření, které způsobuje chemickou degradaci. Jelikož jsou květenství konopí dále využívána pro medicínské účely, musí sušení probíhat s největší možnou péčí. Ta je nutná pro zachování relevantních látek a také pro snížení rizika plesnivění. Sklizený materiál je sušen při teplotě 40°C po dobu 12-15 hodin. Květenství mohou být rozdělena na menší části pro urychlení sušení. Sušení může být zastaveno, pokud se hlavní stoněk v květenství neohýbá, ale praská. Sušení může probíhat i za teplot 25-30°C, v těchto případech pak trvá 3-7 dní. Při sušení je vhodné využívat odvlhčovače vzduchu (Cracker et al. 2014).



Postupem času probíhá ve sklizených květenstvích dekarboxylace kanabinoidních kyselin. Tento proces je urychlen teplem. Během tohoto období se kanabinoidní kyseliny přeměňují na psychoaktivní kanabinoidy, isoprenoidy se izomerují na nové polyterpeny s chutí a vůní odlišnou od čerstvých květenství.

Skladování je pro uchování posklizňové kvality kvůli degradaci  $\Delta^9$ THC světlem a kyslíkem nutné provádět ve vzduchotěsně uzavřených nádobách udržovaných ve tmě. Doporučované teploty skladování jsou 18-20°C pro krátkodobé skladování a -20°C pro dlouhodobé skladování. Se skladovaným materiálem by se mělo co nejméně manipulovat, vysušené trichomy jsou velmi křehké a mohlo by dojít k jejich oddělení či ke kompletnímu zničení. Toto zvláště platí pro zmrazený materiál (Small 2016). I přes již zmíněná opatření s postupem času pomalu probíhá přeměna  $\Delta^9$ THC na CBN. Bylo experimentálně popsáno, že po jednom roce skladování zůstalo za ideálních podmínek v květenstvích 90 % THC (Fairbairn et al. 1976).

### 3.2.5 Výživa léčebného konopí

Správný přísun minerálních živin je nezbytný pro efektivní a udržitelné pěstování jakékoli plodiny. Mezi nejdůležitější živiny pro rostliny patří dusík (N), fosfor (P) a draslík (K). Existuje málo studií zabývajících se reakcí léčebného konopí na tyto živiny. V důsledku toho se pěstitelé léčebného konopí často spoléhají na receptury živin vyvinuté společnostmi vyrábějícími hnojiva nebo na konsenzus komunity založené na nelegální produkci (Bevan et al., 2021). Z literatury o pěstování konopí na vlákno a semeno lze odvodit, že aplikace minerálních živin může ovlivnit konečný obsah sekundárních metabolitů v rostlinách konopí a také jeho celkový výnos. To naznačuje, že výživa by mohla u pěstování medicínského konopí v kontrolovaných podmínkách hrát podobnou roli. Dalo by se ale předpokládat, že konopí pěstované na vlákno a semena bylo vyšlechtěno k těmto účelům a proto bude mít jiné nároky na příjem živin než konopí medicínské (Malík et al., 2021). Pochopení požadavků medicínského konopí na živiny nám může pomoci vyrovnat nabídku a poptávku živin, abychom mohli maximalizovat produkci a zároveň snížit environmentální dopad způsobený plýtváním živinami (Bevan et al., 2021). Přijatelné formy jednotlivých základních živin se na základě potřeb rostlin dělí do dvou skupin. První skupinou jsou makroprvky, mezi které se řadí dusík ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ), fosfor ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ), draslík ( $\text{K}^+$ ), vápník ( $\text{Ca}^{2+}$ ), síra ( $\text{SO}_4^{2+}$ ) a hořčík ( $\text{Mg}^{2+}$ ). Druhou skupinou jsou mikroprvky, mezi které se řadí železo ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ), chlór ( $\text{Cl}^-$ ), mangan ( $\text{Mn}^{2+}$ ), zinek ( $\text{Zn}^{2+}$ ), měď ( $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ), bór ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{BO}_3^-$ ), molybden ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) a nikl ( $\text{Ni}^{2+}$ ) (Barker & Pilbeam 2015).

#### 3.2.5.1 Makroprvky

Dusík je klíčová živina známá svým vlivem na primární i sekundární metabolismus rostlin. Jeho vliv na chemický profil léčebného konopí je málo prozkoumán. Na základě nedávné studie (Saloner & Bernstein, 2021) bylo zjištěno, že optimální dávka N pro největší výnos květenství v růstové i vegetační fázi je 160 mg L<sup>-1</sup>. Dusík byl podáván ve formě vodného roztoku společně se závlahou po celou dobu růstu, vyjma posledního týdne cyklu, během kterého byly rostliny zásobovány pouze vodou. Výsledky také odhalily vliv přísunu dusíku na metabolismus kanabinoidů a terpenů. Nejvyšší koncentrace dvou hlavních kanabinoidů, kyselin  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolové a  $\Delta^9$ -kanabidiolové, byly zjištěny při deficitní koncentraci 30 mg L<sup>-1</sup>. Se zvyšováním obsahu N z 30 na 320 mg L<sup>-1</sup> klesla koncentrace obou kyselin o 69 % (THCA) a 63 % (CBDA). Toto zjištění je však z hlediska pěstování značně problematické. Stejný výzkum stanovuje, že rostliny pěstované při vstupech N nižších než 160 mg L<sup>-1</sup> vykazovaly zpomalený vývoj a známky nedostatku dusíku. Celkový vývoj má přímý vliv na kvalitu květenství. Při koncentracích N vyšších než 160 mg L<sup>-1</sup> nebyl zjištěn pozitivní vliv na

kvalitu květenství. V jiné studii (Caplan et al., 2017) bylo zjištěno, že pokud je dusík podáván ve formě tekutého organického hnojiva, jeho dávka musí být vyšší. Optimální dávka byla stanovena na 390 mg L<sup>-1</sup> pro vegetativní fázi a 260 mg L<sup>-1</sup> pro kvetoucí fázi. Při zvýšení dávky z 57 na 260 mg L<sup>-1</sup> stoupla i biomasa květenství a to o více než 100 %. To však také způsobilo pokles koncentrace kanabinoidů, pravděpodobně v důsledku zředovacího efektu (Trancoso et al., 2022).

Fosfor je základní makroživina potřebná pro mnoho centrálních metabolických procesů v rostlině a tudíž je jedním z hlavních faktorů řídících vývoj a strukturu rostlin. Na základě výzkumu (Shiponi & Bernstein, 2021) bylo zjištěno, že během vegetativní fáze růstu je optimální dávka fosforu 30 mg L<sup>-1</sup>. Při této dávce byla pozorována nejvyšší míra produkce biomasy, rychlosti fotosyntézy, stomatální vodivosti a rychlosti transpirace. Výše dávky fosforu má také vliv na schopnost kořenů přijímat další živiny. Při nízkých koncentracích fosforu se většina akumulovala v kořenech a přesun do výhonů byl inhibován. Stejný efekt měly nízké koncentrace zinku. Zvýšení dávky fosforu mělo pozitivní vliv na příjem a přesun hořčíku. V současné době nebyl zjištěn přímý vliv fosforu na množství THCA a CBCA v květenstvích (Trancoso et al., 2022). Pěstitelé léčebného konopí často zásobují rostliny velkým množstvím fosforu (200 mg L<sup>-1</sup>) z přesvědčení, že vysoká koncentrace fosforu vede ke zlepšení vývoje květenství. Tato praxe by na základě zmíněné studie měla být přehodnocena, jak z důvodů finančních, tak i z možného environmentálního znečištění uniklým přebytečným fosforem (Bevan et al., 2021).

Draslík se podílí na regulaci mnoha vývojových, fyziologických a metabolických procesů v rostlinách, včetně fotosyntézy a držení vody (Saloner et al., 2019). V současnosti neexistují publikované studie, které by zkoumaly vliv draslíku na složení chemického profilu v květenstvích. Byla však provedena studie vlivu draslíku na výnos květenství u nepravě aquaponicky pěstovaného konopí. Bylo zjištěno, že vztah výnosu (g/rostlina) a množství draslíku je lineární. V rozmezích koncentrací draslíku od 15 mg L<sup>-1</sup> do 150 mg L<sup>-1</sup> stoupal i výnos květenství (Yep et al., 2021). Pro vegetativní fázi růstu bylo zjištěno, že při koncentracích menších než 15 mg L<sup>-1</sup> měly rostliny zpomalený růst a na listech vykazovaly znaky nedostatku draslíku. V rozsahu od 60 mg L<sup>-1</sup> do 175 mg L<sup>-1</sup> nebyl pozorován rozdíl oproti kontrolním skupinám. Při zvýšení dávky draslíku nad 175 mg L<sup>-1</sup> bylo pozorováno značné zvýšení tvorby biomasy a to až do dávky 240 mg L<sup>-1</sup>. Byl také pozorován horší příjem vápníku a hořčíku při vyšších koncentracích draslíku (Saloner et al., 2019). Některé hnojivářské společnosti doporučují dávky draslíku 300-400 mg L<sup>-1</sup>. Tyto hodnoty však nejsou podloženy vědeckým výzkumem (Bevan et al., 2021).

Hořečnaté kationty můžeme popsat jako relativně mobilní a jejich koncentrace v listech rostlin je vysoká, jelikož je součástí chlorofylu. Byl popsán negativní vztah mezi hořčíkem a mědí, vyplývající ze skutečnosti, že oba ionty soutěží o stejná vazebná místa. Obsah Δ<sup>9</sup>THC a CBD v listech konopí klesá se zvyšující se koncentrací dostupného hořčíku (Malík et al., 2021).

### 3.2.5.2 Mikroprvky

O vlivu mikroprvků na produkci medicínského konopí je známo ještě méně, než víme o vlivu makroprvků.

Radosavljevic-Stevanovic et al. (2014) zkoumali vztah obsahu kovů v jednotlivých částech rostliny a obsah kovů v půdě, kde rostliny rostly s obsahem kanabinoidů. Výsledkem tohoto výzkumu bylo popsání pozitivního vztahu železa při koncentraci Δ<sup>8</sup>THC v listech. Autoři se domnívají, že důvodem je role železa jako kofaktoru v enzymech zodpovědných za produkci Δ<sup>8</sup>THC. Koncentrace železa (a chromu) byla také popsána jako negativní faktor ve vztahu k produkci CBD. Možným vysvětlením je role železa jako součást katalázy, jež je

zodpovědná za přeměnu peroxidu vodíku vzniklého při katalytické reakci CBDA syntázy. Vliv chromu může být vysvětlen jeho přirozeným výskytem v přírodě společně se železem ve formě chromitu ( $\text{FeCr}_2\text{O}_4$ ). Byl také popsán pozitivní vztah koncentrace manganu k CBN, důvod však popsán nebyl.

### 3.3 Biostimulanty

Biostimulanty v zahradnické praxi chápeme jako látky podporující růst rostlin, aniž by byly hnojivy nebo pesticidy. Poprvé bylo slovo biostimulant použito v roce 2007 (Kauffman et al., 2007), kde bylo definováno jako látky jiné než hnojiva, které podporují růst rostlin, pokud jsou aplikovány v malých množstvích. Tato definice spíše vymezuje, co biostimulanty nejsou, než co jsou. Současná odborná společnost popisuje biostimulanty jako jakoukoliv látku, kmen mikroorganismu nebo kombinaci obojího, jež je rostlinám aplikována ke zvýšení tolerance k abiotickému stresu, k účinnosti výživy a kvalitativním charakteristikám plodin, bez ohledu na obsah živin (Malík et al., 2021).

V rámci Evropské Unie jsou biostimulanty regulovány vyhláškou Evropské rady a parlamentu 2019/1009 o hnojivých látkách. Dle této vyhlášky jsou biostimulanty děleny podle mechanismu účinku na a) látky zvyšující efektivitu výživy, b) látky zvyšující toleranci k abiotickému stresu, c) látky zlepšující kvalitativní znaky, d) látky zvyšující přístupnost živin v půdě a rhizosféře. Velký potenciál mají biostimulanty v budoucnu v rámci organického zemědělství.

### 3.4 Typy biostimulantů

Profesor Du Jardin navrhuje dělení na sedm skupin: huminové a fulvinové kyseliny, proteinové hydrolázy, extrakty z mořské řasy a jiných rostlinných látek, chitosan a další přírodní polymery, anorganické sloučeniny, prospěšné houby, a prospěšné bakterie (Du Jardin, 2015).

#### 3.4.1 Huminové a fulvinové kyseliny

Huminové látky jsou přirozené složky půdní organické hmoty. Vznikají rozkladem rostlinného, živočišného a mikrobiálního materiálu, ale také činností půdních mikroorganismů. Dělí se na huminy, huminové kyseliny, a fulvinové kyseliny (Du Jardin, 2015). Zásadní pro chápání chemie huminových látek je pohlížet na ně jako na supramolekulární asociaci malých heterogenních částic držených pohromadě slabými hydrofobními vazbami. V roztoku jsou huminové látky lépe popsány jako soubor různorodých látek s relativně nízkou molekulární hmotností, tvořící dynamické asociace stabilizované hydrofobními interakcemi a vodíkovými vazbami. Poměr hydrofilních/hydrofobních skupin řídí environmentální reaktivitu huminových látek (Piccolo, 2012). Huminové kyseliny se definují jako humusové materiály rozpustné ve vodných alkalických roztocích, které se při změně pH na 1-2 srážejí. Fulvinové kyseliny oproti tomu zůstávají v roztoku i po okyselení (Hayes, 2006). Huminové látky tvoří velkou část organického uhlíku na Zemi. Jsou součástí mnoha důležitých ekologických a environmentálních procesů. Regulují cyklus uhlíku a cyklus dusíku, růst rostlin a mikroorganismů, transportují a přeměňují antropogenně odvozené sloučeniny a těžké kovy, stabilizují půdní strukturu (Piccolo, 1996). Účinky huminových a fulvinových kyselin na růst rostlin popsali v metaanalýze Rose et al. (2014). Výsledky ukázaly, že suchá hmotnost kořenů a výhonů různých rostlinných druhů, u kterých byly exogenně aplikovány huminové látky, stoupla od 22 % (Rose et al., 2014). Zlepšený růst rostlin v reakci na aplikaci huminových

látek nelze připisovat živinám v nich obsažených, protože jsou vázány v humuso-jílnatých agregátech, které velmi pomalu mineralizují v půdě. Skutečným původcem je interakce huminových látek s rostlinnými transportéry zodpovědnými za příjem živin a přenos signálů přes membránu, které regulují růst a vývoj (Canellas et al., 2015). Mechanismem účinku je tedy zlepšení přístupnosti živin v rhizosféře. Mají velmi pozitivní účinek i na růst kořenů a kořenovou strukturu. Pro zemědělské účely se získávají z přirozeně humifikovaného organického materiálu (rašelina), z kompostů a vermikompostů a z přírodních ložisek leonarditu (Du Jardin, 2015)

### 3.4.2 Proteinové hydrolázy

Aminokyselinové a peptidové směsi jsou získávány chemickou nebo enzymatickou proteinovou hydrolýzou z agroindustriálních vedlejších produktů. Ty mohou být rostlinného i živočišného původu. Využitá může být i chemická syntéza (Colla et al., 2015). Proteinové hydrolázy mají, případ od případu, odlišné účinky. Přímou ovlivňují příjem a přeměnu dusíku a to regulací enzymů zapojených do přeměny dusíku a působením na signální dráhu pro příjem dusíku v kořenech. Regulací enzymů citrátového cyklu přispívají ke zvýšení efektivity koordinace energetické výměny mezi metabolismy uhlíku a dusíku. U aminokyseliny prolinu byl popsán chelátový efekt, který chrání rostliny před těžkými kovy a také přispívá k mobilitě mikroprvků a jejich příjmu. U trimethylglycinu a prolinu byl pozorován antioxidační efekt, který je třeba ke zmírnění stresu způsobného prostředím. Mezi nepřímé účinky proteinových hydroláz řadíme zvýšenou mikrobiální biomasu i aktivitu. (Du Jardin, 2015) Bylo zjištěno, že proteinové hydrolázy živočišného původu nejsou při jednorázovém použití genotoxické, ekotoxické ani fytotoxické (Corte et al., 2014). Při opakované aplikaci byly zjištěny fytotoxické účinky (Lisiecka et al., 2011). U proteinových hydroláz z rostlinných zdrojů takové účinky zjištěny nebyly (Cerdán et al., 2009). Z tohoto důvodu existují obavy o bezpečnost proteinových hydroláz získaných z živočišného materiálu a proto bylo Evropskou Unií zakázáno jejich užití na jedlých částech pěstovaných rostlin (Du Jardin, 2015).

### 3.4.3 Extrakty z mořských řas

Mořské řasy je souhrnné označení pro více než 10000 druhů zelených řas, chaluž a ruduch (červené řasy) žijících ve slané vodě. Jako součást organických hnojiv se využívají od pradávna. První důkazy o takovém využití řas se datují z doby před 15 000 lety v oblasti jižní Chile (Battacharyya et al., 2015). Řasy byly využívány vcelku a na základě ověřených zkušeností starých zemědělců. Tato praxe kolem roku 1950 ustává, je nahrazena využitím extraktů z jednotlivých druhů mořské řasy. Jsou získány z řas *Ascophyllum nodosum*, *Ecklonia maxima*, *Macrocystis pyrifera* and *Durvillea potatorum*. Mezi metody získávání patří alkalická extrakce, kyselá extrakce a technologie buněčného rozbití (Battacharyya et al., 2015). Extrakty obsahují polysacharidy laminarin, algamin, karagen, a jejich rozkladné produkty. Dalšími složkami podporujícími růst rostlin jsou mikro i makroživiny, steroly, trimethylglycinu, a hormony (Craigie, 2011). Hnědé řasy jsou také bohaté na fenolické sloučeniny. Fenoly jako sekundární metabolity jsou v rostlinách syntetizovány při působení stresu a chrání buňky a jejich součásti. Extrakty z mořské řasy mohou být aplikovány foliárně, přímo do půdy, nebo přidávány do hydroponických roztoků. V půdách jejich polysacharidy pomáhají s tvorbou půdního „gelu“, podporují vázání vody a provzdušnění půdy. Polyaniotové sloučeniny v nich obsažené podporují fixaci a výměnu kationtů, což také pomáhá s fixací těžkých kovů při půdní nápravě (Du Jardin, 2015). Hormony obsažené v extraktech (cytokininy, auxiny, gibereliny, kyselina abcisová) mají pozitivní efekt na klíčivost semen. Byly také popsány stres redukující účinky a to jak ve formě antioxidačních účinků, tak ve formě regulace endogenních na stres reagujících genů.

Hnědé řasy, například *Alaria esculenta*, obsahují manitol. Manitol nejenže chrání rostliny před stresem, ale také je známý jako chelatační činidlo, díky čemuž je schopný uvolňovat jinak nedostupné prvky do půdy (Battacharyya et al., 2015).

#### 3.4.4 Vezikulo-arbuskulární houby

Arbuskulární mykorrhizní houby hrají díky své schopnosti zvýšit příjem minerálních látek významnou roli ve výživě rostlin. Dokážou růst pouze v přítomnosti hostitelské rostliny, jsou to obligátní symbionti. Jsou široce využívány v zahradnické praxi, převážně *Rhizopagus intradices* a *Funneliformis mossae*. Vzhledem k interakcím s půdními dvoj a troj vaznými ionty, především  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , je symbióza těchto hub klíčová pro zvýšení příjmu obecně nepohyblivých a nerozpustných iontů v půdě. Je však nutné zmínit, že také interagují s iontem  $\text{Al}^{3+}$ , který je vysoce fytotoxický, limitující růst kořenových čepiček a buněčné dělení (Rouphael et al., 2015; Mossor-Pietraszewska 2001). Mají schopnost vytvořit síť vnějších hyf, schopných zvětšit plochu a objem pro přijímání živin až 40x. Vypouští fosfatázy, které umožňují hydrolýzu fosfátů z organických sloučenin, čímž zlepšují kvalitu růstu za malých vstupů. Narušují fytohormonální rovnováhu rostlin, tím regulují růst rostlin a také snižují dopady vnějších vlivů. Výsledkem je zvýšená produkce biomasy (Rouphael et al., 2015). Dle výzkumu vedeného Sbrana et al. (2014) může symbióza těchto hub způsobit změny v sekundárním metabolismu rostlin, které podpoří tvorbu zdraví prospěšných fytochemikálií. Autoři studie navrhuje další výzkum s cílem identifikace slibných taxonů, které mohou zvýšit nutriční hodnotu produktů, aby bylo možné lépe porozumět mechanismům způsobujícím změny v sekundárním metabolismu rostlin.

#### 3.4.5 Houby rodu *Trichoderma*

*Trichoderma* je rod mykotrofních vláknitých hub, který obsahuje více než 200 druhů. Vyskytují se v širokém spektru ekosystémů, parazitují na jiných houbách, mrtvém dřevě, v půdě i rhizosféře rostlin (Atanasova et al., 2013). Biostimulanty na mikrobiální bázi jsou důležité od počátku zemědělství (*Rhizobium* v luštěninách). Schopnost rostlin prospívat ze vztahu s mikroorganismy závisí na složité chemické a nutriční signalizaci, půdních podmínkách a vlivu prostředí. Cukry, organické kyseliny, aminokyseliny a fenolické látky uvolňované kořeny rostlin mění složení rhizosférických komunit a podporují pozitivní interakce (Ortiz-Castro et al., 2014). Druhy *Trichoderma* jsou součástí skupiny PGPF (plant growth promoting fungi), které byly účinně využity pro biologickou kontrolu fytopatogenů jako je například *Fusarium oxysporum* (El Komy et al., 2015). *Trichoderma* má širokou škálu antagonistického potenciálu a biostimulační aktivity, což vede ke kmenům s převážně biostimulačním účinkem i jinými účinky s převážně antagonistickou aktivitou. Z tohoto důvodu jsou některé kmeny *Trichoderma* vhodnější pro biologickou kontrolu jako biopesticidy, zatímco jiné fungují jako biostimulanty k podpoře růstu plodin a příjmu živin. *Trichoderma* podporuje růst rostlin a mění genovou expresi v kořenech a výhonech, aby mohly rostliny účinněji odolávat environmentálním stresům jako je vysychání nebo přesolení. Houbové mycelium vylučuje sloučeniny, které zvyšují míru větvení kořenů a tím zlepšují příjem vody a živin. Rozšiřováním kořenového systému také zvyšuje stabilitu rostliny (López-Bucio et al., 2015).

#### 3.4.6 Vliv biostimulantů na pěstování léčebného konopí

Při pěstování léčebného konopí bylo zkoumáno využití huminových a fulvinových kyselin. Z pokusu vedeného Filho et al. bylo zjištěno, že doplnění huminových kyselin mělo pozitivní účinek na výšku rostlin (105 %), obsah chlorofylu (52 %), efektivitu fotosyntézy (43 %),

množství nadzemní biomasy (122 %) a nakonec i ostříhané biomasy (117 %) oproti kontrolní skupině rostlin pěstované bez dodatečných přípravků (Filho et al., 2022). Filho et al. v rámci studie popisují dobu sázení rostlin. Byly provedeny dva experimenty (2019,2020), přičemž doba sadby u experimentu v roce 2020 byla suboptimální. V roce 2019 byla doba sázení optimální a pouze výška rostlin a obsah chlorofylu byly ovlivněny. Výsledky tohoto výzkumu také podporují hypotézu, že účinky biostimulantů jsou největší, pokud na rostlinu působí stres (Filho et al., 2022).

Výzkum vedený Bernstein et al. zkoumal obsah kanabinoidů u rostlin pěstovaných za použití huminových kyselin. Koncentrace kanabinoidů byla zkoumána v květenstvích a listech květenství ve třech různých výškách rostliny (vrcholek, střed, a spodek). Hodnocena byla také koncentrace ve velkých listech z hlavního výhonu. Květenství byla roztržena na květy a listy, které byly po dobu tří týdnů sušeny z vlhkosti 16-18 % (květy) a 55 % (listy). Výsledky ukazují, že doplnění huminových kyselin způsobilo pokles hladin  $\Delta^9$ THC, CBD, i CBG jak v květenstvích, tak v listech z květenství. Podobný trend byl pozorován i u méně významných kanabinoidů, konkrétně u THC-C1, THCV, CBC, CBL, CBT, a DHC1. Ve velkých listech byl také pozorován pokles hladin kanabinoidů  $\Delta^9$ THC, CBD, CBG, CBC, THCV, CBCT a CBL. Doplnění kyseliny huminové značně snížilo přirozenou prostorovou variabilitu kanabinoidů v rostlinách. Vzniklý rostlinný materiál byl uniformnější, avšak za cenu poklesu koncentrace v květenstvích. Huminové kyseliny měly také vliv na tvorbu biomasy, bylo pozorováno zvýšení tvorby biomasy listů. Množství biomasy květenství kleslo o 13 %. U rostlin pěstovaných za působení huminových kyselin byly pozorovány snížené hladiny chlorofylu a i b (Bernstein et al., 2019).

Bylo také pozorováno zvýšení výnosu květenství až o 16,5 % u rostlin pěstovaných za použití mikrobiálního biostimulantu Mammoth P<sup>TM</sup>. Zvýšený výnos byl spojený i s vyšší výškou rostlin a plochou stonku. Mammoth P<sup>TM</sup> je mikrobiální stimulant vyvinutý Státní Univerzitou Colorado, jeho složení bohužel není uvedeno (Conant et al., 2017).

## 4 Metodika

### 4.1 Popis experimentu

#### 4.1.1 Pěstební prostor

Rostliny byly pěstovány v kontrolovaných podmínkách specializované laboratoře. Laboratoř je rozdělena do pěti místností. Čtyři z nich, identické technikou i rozložením, slouží k pěstování rostlin. Jedna z těchto místností slouží k udržování mateřských rostlin a klonování. Poslední místnost laboratoře pěstební prostory propojuje a nachází se zde potřebné vybavení.

V rámci pěstební místnosti jsou rostliny rozděleny na čtyři stoly o rozměrech 2 m<sup>2</sup> (2x1 m). Ke každému ze stolů je zavedena vlastní 100 l nádrž pro živný roztok. Nádrže jsou vyrobeny z inertního materiálu, certifikovaného pro potravinářské využití. Byl využit průtokový systém, k jednotlivým stolům byly také zavedeny nádrže na přebytečný živný roztok, aby nedošlo ke smíchání s původním živným roztokem. Rostliny jsou pěstovány v černých kónických květináčích o objemu 3,45 l se čtvercovým půdorysem. Rozměry květináčů jsou 15x15 cm na vrcholu, 11,5x11,5 cm na základně, výška 20 cm. Závlaha je zavedena ve formě kapilár zakončených kapilární jehlou. Ke každé rostlině je zavedena jedna kapilára. Během prvních osmi týdnů byl časovač pumpy nastaven na sedm cyklů denně, poté byly dva cykly přidány. Jeden zavlažovací cyklus trvá 60 s. V jednom cyklu bylo dodáno 94 ml živného roztoku každé z rostlin. Denní dávka živného roztoku tedy v prvních osmi týdnech odpovídala 658 ml, poté 846 ml.

Mikroklima místnosti je na požadované hladině udržováno vzduchotechnickou jednotkou, která také zaznamenává hodnoty (relativní vzdušná vlhkost, koncentrace CO<sub>2</sub>, teplota). Zvýšení koncentrace CO<sub>2</sub> je zajištěno metanovým hořákem.

Osvětlení v pěstebním prostoru obsluhuje šest vysokotlakých sodíkových výbojek o výkonu 1000 W. Tento typ výbojek poskytuje rostlinám plné světelné spektrum. Na základě hustoty fotosyntetického toku fotonů byla určena hodnota 1,029 μmol/m<sup>2</sup> při výkonu 6000 W. Světelné podmínky byly po celou dobu pokusu zaznamenávány také.

#### 4.1.2 Podmínky prostředí

V pěstebním prostoru byla v průběhu světelné části vegetativní fáze udržována teplota 25°C, relativní vzdušná vlhkost 60 % a koncentrace CO<sub>2</sub> 550 ppm (1065 mg/m<sup>3</sup>). Během temnostní fáze byla teplota upravena na 22°C, hodnoty vzdušné vlhkosti i koncentrace CO<sub>2</sub> upraveny nebyly. Světelný režim byl v poměru 18 h světla k 6 h tmy. Vegetativní fáze trvala 21 dní. Pro kvetoucí fázi experimentu byl změněn světelný režim na poměr 12 h světla a 12 h tmy. Teplota a koncentrace CO<sub>2</sub> zůstaly nezměněny, pouze relativní vzdušná vlhkost byla snížena na 40 %.

#### 4.1.3 Příprava klonů

Rostliny použité v experimentu pocházely z mateřských rostlin evidovaných pod pracovním názvem „McLove“. Rostliny byly klasifikovány jako chemotyp 1. – vysoký obsah kyseliny tetrahydrokanabinolové ku kyselině kanabidiolové. Z mateřských rostlin byly odebrány řízky, každý byl po dobu 21 dní pěstován v rockwoolových tabletách o rozměru 4x4 cm.

V pěstebních nádobách byly rockwoolové tablety postaveny na vrstvě perlitu. Zakořeněné klony byly přesunuty do pěstební místnosti, kde byly usazeny do květináčů o objemu 3,45 l naplněných keramzitem nebo kokosovým vláknem.

#### 4.1.4 Substrát

Rostliny byly pěstovány na dvou odlišných typech substrátů. Prvním byl keramzit o frakci 8-16 mm. Druhý typ substrátu použitý v této studii se skládal z hrubého kokosového vlákna, které nebylo obohaceno o žádné živiny. Na každém typu substrátu byly pěstovány čtyři rostliny, aby byla zajištěna dostatečná replikace.

#### 4.1.5 Výživa

V rámci experimentu byly využity přípravky firmy Emerald Harvest. Stoly v místnosti byly označeny A a EG (Emerald Goddess). Na každém ze stolů byla využita jiná kombinace přípravků. Na stole A, který sloužil jako kontrolní, byl použit základní přípravek CALI PRO GROW A+B pro vegetativní fázi a CALI PRO BLOOM A+B pro kvetoucí fázi. Na stole C bylo použito základní CALI PRO a přípravek Emerald Goddess

Pěstební cyklus trval dvanáct týdnů. Během prvních tří týdnů byly rostliny ve vegetativní fázi, následných devět týdnů ve fázi kvetení. Přípravek CALI PRO GROW A+B byl využíván v průběhu vegetativní fáze, přípravek CALI PRO BLOOM A+B pak během kvetení. Shrnutí aplikace jednotlivých přípravků i s jejich koncentracemi (ml/L) je zaznamenáno v tabulce 2. V posledních týdnech pokusu (11.-12.) již nebyly aplikovány přípravky EMERALD HARVEST, ale demineralizovaná voda. Ta byla postupně míchána se zbylým živným roztokem, aby se předešlo šoku pro rostliny.

Díky průtokovému systému bylo nutné každý týden třikrát připravovat nový živný roztok. Při přípravě byly vždy měřeny hodnoty pH a EC (electric conductivity). Přebytný živný roztok ve sběrné nádobě byl likvidován.

##### 4.1.5.1 CALI PRO GROW/BLOOM A+B

Přípravek CALI PRO GROW A+B je dvoudílné základní hnojivo určené pro vegetativní fázi růstu. CALI PRO BLOOM A+B je také dvoudílné základní hnojivo, určené pro kvetoucí fázi. Oba přípravky byly vyvinuty pro hydroponické pěstování konopí. Obsah makroprvků i mikroprvků je zaznamenán v tabulce 3.

Vyžité přípravky a dávka (ml/L)	týden	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
	fáze	veg.	veg.	veg.	květ.	květ.	květ.	květ.	květ.	květ.	květ.	květ.	květ.
CALI GROW PRO A		0,75	1	1,25	1,25								
CALI GROW PRO B		0,75	1	1,25	1,25								
CALI BLOOM PRO A						1,25	1,25	1,5	1,5	1,5	1,5	DV	DV
CALI BLOOM PRO B						1,25	1,25	1,5	1,5	1,5	1,5	DV	DV
EMERALD GODDES			1,5	1,5	1,5	2	2	2,5	2,5	2,5	2,5	DV	DV

Tabulka 1.: Týdenní aplikace a koncentrace jednotlivých přípravků (veg. – vegetativní fáze, květ. – kvetoucí fáze, DV – demineralizovaná voda)



(%)	GROW A	GROW B	BLOOM A	BLOOM B	EMERALD GODDESS
amonný N	0,5	0,3			0,1
nitratový N	2	1,7	2,5	1	0,8
močovinový N	0,5		0,5		1
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		2		4	1
ve vodě rozpustný P		0,9			0,5
K <sub>2</sub> O		5	3	6	4
ve vodě rozpustný K		4	2,5		3,3
Ca	2		2		
B	0,02		0,02		
Cu	0,005		0,005		
Fe	0,1		0,1		
Mn	0,04		0,04		
Mo	0,002		0,002		
Na	0,1		0,1		
Zn	0,02		0,02		
Mg		0,5		1	
ve vodě rozpustné Mg	0,5				
S	0,5			0,5	
Vitamín B1					0,01
humínové kys.					0,1

Tabulka 2.: Obsah makroprvků, mikroprvků a biostimulantů v užitých přípravcích

#### 4.1.5.2 Emerald Goddess

Přípravek Emerald Goddess je určen jako doplněk k základnímu hnojivu. Účinné látky v přípravku Emerald Goddess jsou derivované z triakontanolu získaného z *Medicago sativa*, dále jsou derivované z extraktu z mořské řasy. Díky obsahu vitamínu B1 (thiamin) podporuje růst kořenů, stimuluje vývoj květenství a urychluje fotosyntetické procesy. Součástí jsou huminové kyseliny získané z leonarditu. Obsah makroprvků i mikroprvků je zaznamenán v tabulce 2.

#### 4.1.6 Sběr rostlinného materiálu

Sběr rostlin probíhal ve 12. týdnu. Rostliny byly vykořeněny, rozděleny na listy, stonky a květy a čerstvé části každé rostliny byly zváženy zvlášť. Po vysušení při 25 °C na konstantní obsah vlhkosti (8–10 %) byl materiál poté znovu zvážen. Před analýzou byly části rostlin homogenizovány. Po zmražení v kapalném dusíku se květy rozdrtily v hmoždíři. V mlýnku byly zpracovány sušené listy a stonky.

#### 4.1.7 Určení a stanovení obsahových látek

Pro určení hladin kanabinoidů byla použita metoda dynamické macerace. Z homogenizované hmoty květenství každé z vybraných rostlin bylo odváženo 0,30 g. Odvážený vzorek byl poté v kádince smíchán s 10 ml rozpouštědla (96 % ethanol) a macerován po dobu 60 minut při rychlosti 300 rpm. Po uplynutí 60 min byla směs pomocí vakua přefiltrována přes filtrační zařízení dle Mortona (pórovitost S4/P16). Přefiltrovaná kapalina byla zachycena v kádince. Rostlinná hmota byla zachycena filtrem, vyškrábána do kádinky a bylo k ní znovu přidáno 10 ml 96 % ethanolu a poté byl vzorek po dobu 60 minut znovu macerován. Tento krok byl opakován dvakrát a filtráty byly smíchány. Výsledkem procesu bylo 30 ml filtrátu. Ze získaného filtrátu bylo pomocí automatické pipety odebráno 0,5 ml a to bylo naředěno na 10 ml 96 % ethanolom. Zředěný filtrát byl přes stříkačkový filtr (22 µm) vpraven do

laboratorních ampulek. Vzorokly extraktů byly hodnoceny pomocí systému HPLC-DAD (high-performance liquid chromatography system equipped with diode array detection). Systém byl externě kalibrován použitím kyseliny kanabinolové (CBNA) v rozsahu 0,3-10 ml/l a kyseliny tetrahydrokanabinolové v rozsahu 0,3-100 ml/l, v roli standardů.

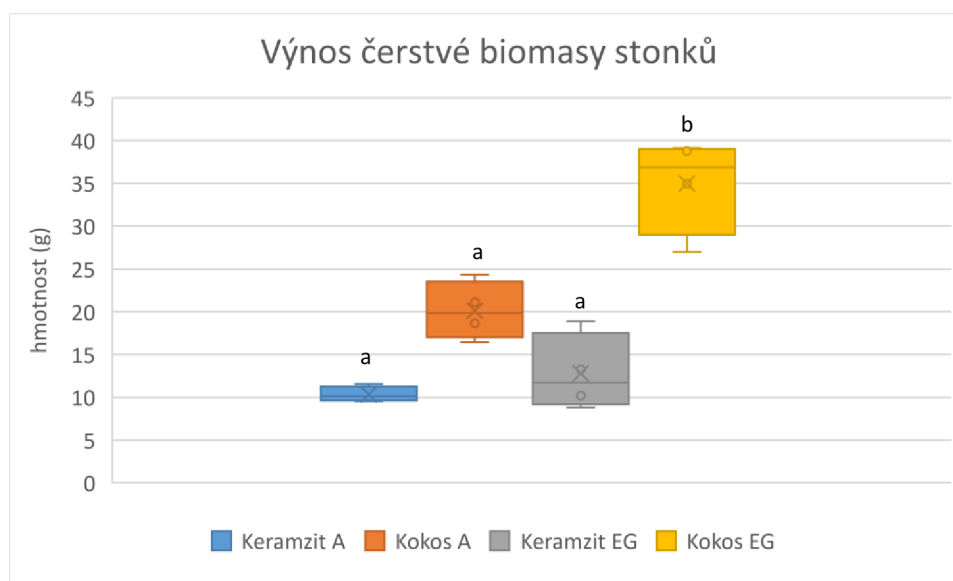
K statistické analýze dat byl použit ANOVA (Analysis of variance) test následovaný Tukeyho HSD (honestly significant difference) testem ( $p \leq 0.05$ ). K vyhodnocení statistické analýzy byl použit Microsoft Excel.

## 5 Výsledky

### 5.1 Výnos čerstvé hmoty

Měření výnosu čerstvé hmoty bylo rozděleno na tři části: stonky, květy, a listy. Výsledky měření jsou zaznamenány v grafech 1,2,3.

Největšího výnosu hmoty stonku dosáhly rostliny pěstované na kokosovém vlákně, ve variantě EG (Ø 34,96 g). Oproti rostlinám pěstovaným na keramzitu (Ø 12,79 g), dosáhly změřené hmotnosti skoro trojnásobných průměrných hodnot. Při srovnání rostlin pěstovaných s využitím doplňku Emerald goddess s kontrolním stolem A, byl pozorován přírůstek hmoty o 14,82 g u rostlin pěstovaných na kokosovém substrátu a 2,46 u rostlin pěstovaných na keramzitu.

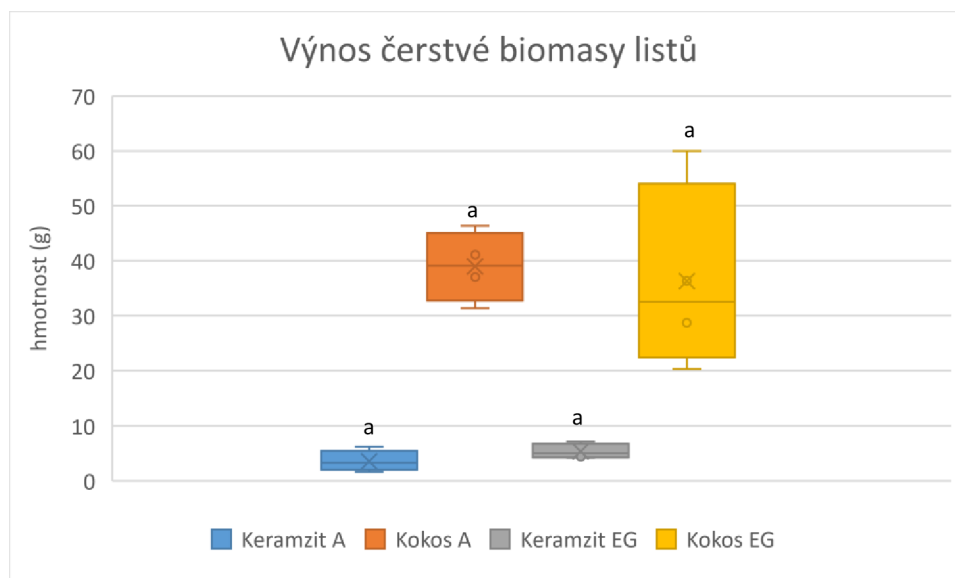


Graf 1: Výnos čerstvé hmoty stonků. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0.05$ )

Nejvyšších průměrných i mediánových výsledků výnosu listů dosáhly rostliny pěstované na kokosovém substrátu, bez použití EG (Ø 38,97 g), které byly o 35,38 g vyšší než u rostlin pěstovaných na keramzitu varianty A (Ø 3,59 g). Rozdíl mezi průměrnými hodnotami zjištěnými u varianty EG byl podobný, o 30,97 g vyšší hmotnost ve prospěch rostlin na kokosovém substrátu (Ø 36,32 g). Při srovnání rostlin pěstovaných na keramzitu bylo změřeno, že rostliny pěstované za použití přípravku EG (Ø 5,35 g), mají o 1,76 g více listové hmoty než kontrolní varianta A (Ø 3,59 g). U rostlin pěstovaných na kokosovém substrátu přírůstek hmoty u varianty EG pozorován nebyl, kontrolní varianta A (Ø 38,97 g) dosáhla výsledků o 2,65 g lepších ve srovnání s variantou EG (Ø 36,32 g), ačkoliv nejvyšší naměřená hodnota byla pozorována u rostliny pěstované na kokosovém substrátu (59,62 g). Rozdíl ve výnosu byl však Tukeyho SDH testem vyhodnocen jako insignifikantní.

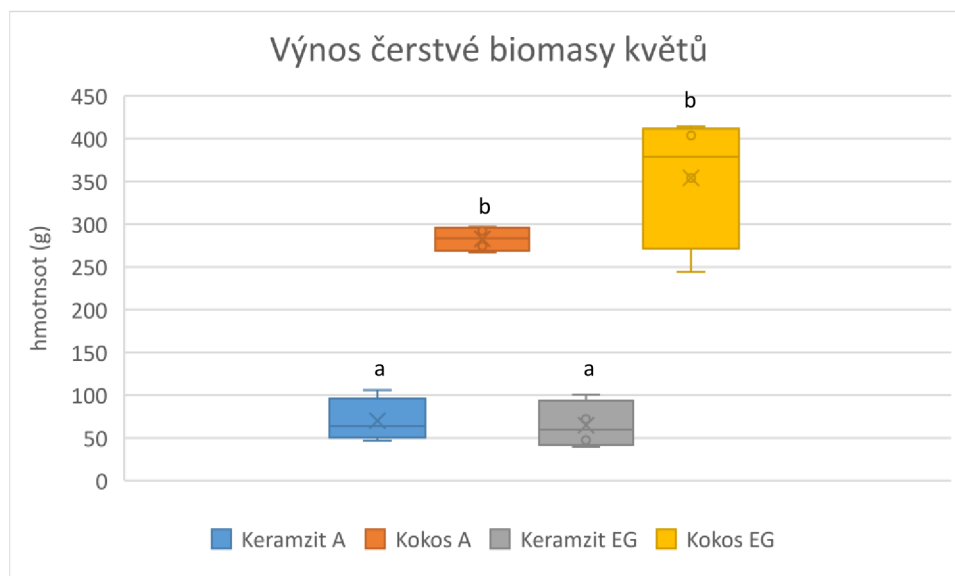
Nejvyšší výnos čerstvé hmoty květů byl opět naměřen u rostlin pěstovaných na kokosovém substrátu za použití přípravku EG (Ø 354,07 g). Při srovnání s rostlinami pěstovanými na keramzitu za použití EG (Ø 64,93 g) byly změřené hodnoty o 289,14 g vyšší, což odpovídá již procentuálnímu rozdílu (85 %) listové hmoty při použití přípravku EG. Výsledky kontrolní varianty dopadly o 212,53 g lépe ve prospěch rostlin pěstovaných na kokosovém substrátu (Ø 282,61 g).

Mezi variantami rostlin pěstovaných na keramzitu byl změřen velmi malý rozdíl a to o 5,14 g více hmotnosti než u kontrolní varianty A (Ø 70,07 g). U rostlin na kokosových substrátech byl naopak rozdíl značný, rostliny pěstované za použití přípravku EG (Ø 354,07 g) měly o



Graf 2: Výnos čerstvé hmoty listů. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0.05$ )

71,46 g květní hmoty více než rostliny varianty A (Ø 282,61 g). Ze statického hlediska však ani tento rozdíl není relevantní.

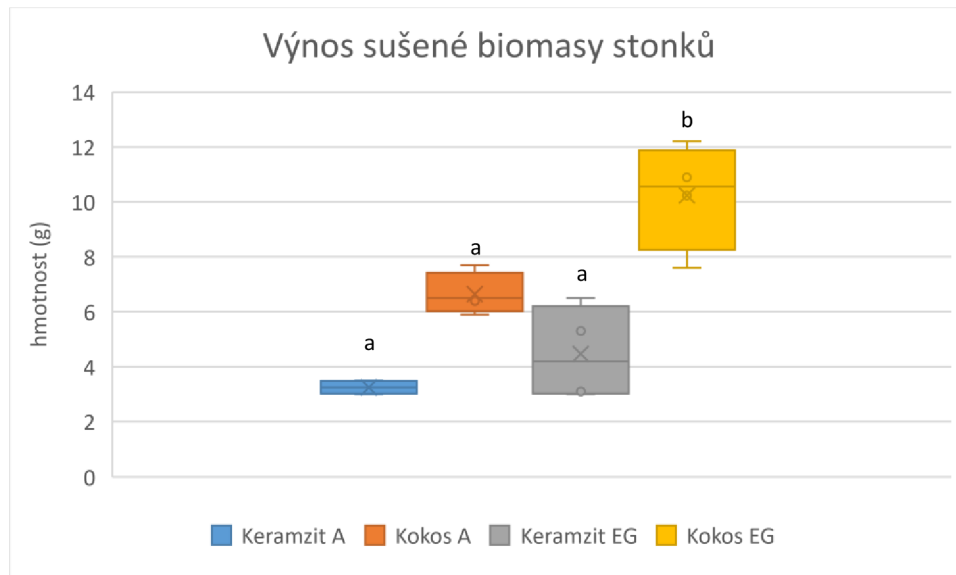


Graf 3: Výnos čerstvé hmoty květů. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0.05$ )

## 5.2 Výnos suché hmoty

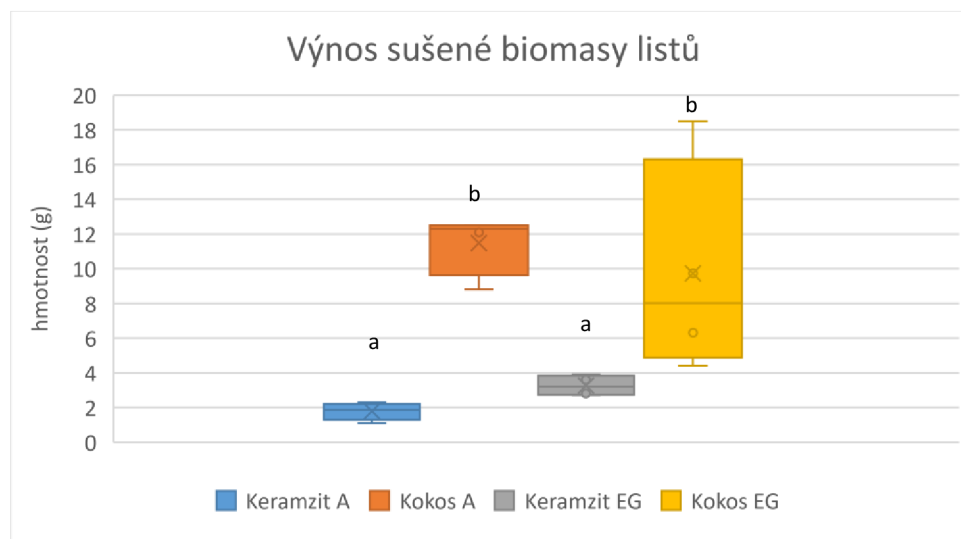
Měření sušiny probíhalo stejně jako měření čerstvé hmoty, bylo tedy opět rozděleno na tři části: stonky, listy a květy. Výsledky měření jsou zaznamenány na grafech 4,5,6. U měření hmotnosti výnosu suché hmoty stonků nejlépe vyšla varianta rostlin pěstovaných na kokosovém substrátu za použití přípravku EG (Ø 10,23 g). Oproti rostlinám pěstovaným na keramzitu ve variantě EG (Ø 4,48 g) měly o 5,75 g více biomasy stonku. Podobný poměrový rozdíl (43 % EG, 48 % A) mezi typy substrátu byl změřen i u rostlin varianty A, kde rostliny

pěstované na kokosovém substrátu ( $\emptyset$  6,65 g) měly o 3,4 g více hmoty stonku než rostliny pěstované na keramzitu ( $\emptyset$  3,25 g). Při porovnání variant A ( $\emptyset$  6,65 g) a EG ( $\emptyset$  10,23 g) rostoucích na kokosovém vlákně byl zjištěn signifikantní rozdíl ve výnosu a to 3,58 g biomasy stonku ve prospěch varianty EG. U rostlin rostoucích na keramzitu byl pozorován přírůstek hmoty o 1,23 g u varianty EG ( $\emptyset$  4,48 g) oproti variantě A ( $\emptyset$  3,25 g). Ze statistického hlediska tento přírůstek však není signifikantní.



Graf 4: Výnos sušené hmoty stonků. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0.05$ )

Stejně jako u čerstvé hmoty, usušené listy dosáhly nejvyšších hodnot výnosu na rostlinách pěstovaných na kokosovém substrátu v kontrolní variantě A ( $\emptyset$  11,48 g). Rostliny pěstované na keramzitu, také v kontrolní variantě A ( $\emptyset$  1,78), dosáhly výnosu o 9,7 g nižšího.



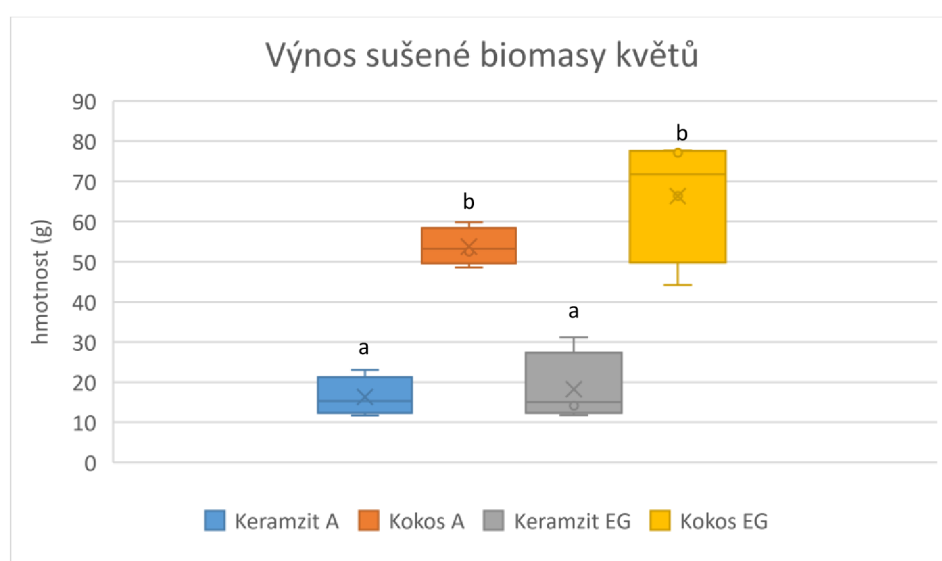
Graf 5: Výnos sušené hmoty listů. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0.05$ )

U varianty pokusu EG byl rozdíl mezi substráty menší, rostliny pěstované na keramzitu ( $\emptyset$  3,25 g) dosáhly o 6,48 g nižšího výnosu než rostliny pěstované na kokosovém vlákně ( $\emptyset$  9,73 g).

Statistické hodnocení neukázalo na vliv výživy mezi variantami. Výsledky varianty EG ( $\emptyset$  3,25 g) byly oproti kontrolní variantě A ( $\emptyset$  1,78 g) lepší u rostlin pěstovaných na keramzitu a

to o 1,47 g . U konopí pěstovaného na kokosovém substrátu dosáhly rostliny varianty EG (Ø 9,77 g) o 1,71 nižšího výnosu oproti rostlinám v kontrolní variantě A. Zde je třeba upozornit na velkou variabilitu rostlin varianty EG na kokosovém vlákně, díky které není prokazatelný signifikantní rozdíl mezi variantami a také by při pohledu na graf č.6 mohla vytvářet mylný dojem nejvyššího výnosu.

U měření hmotností sušených květů vyšla u obou typů substrátu lépe varianta EG. Rostliny pěstované na kokosovém vlákně ve variantě EG (Ø 66,33 g) měly o 12,63 g více biomasy oproti variantě A (Ø 53,7 g). Rostliny pěstované na keramzitu ve variantě EG (Ø 18,25 g) měly výnos o 1,95 g vyšší oproti rostlinám varianty A (Ø 16,3 g). Statistické hodnocení však neukázalo signifikantní rozdíl mezi variantami výživy. U kontrolní varianty A byl změřen o 37,4 g vyšší výnos u rostlin pěstovaných na kokosovém vlákně (Ø 53,7 g) oproti rostlinám pěstovaným na keramzitu (Ø 16,3 g). Rozdíl výnosu mezi substráty u varianty EG byl z hlediska poměru podobný (70 % A, 72 % EG), rostliny pěstované na kokosovém vlákně (Ø 66,33 g) měly o 48,08 g vyšší výnos oproti rostlinám pěstovaným na keramzitu (Ø 18,25 g).

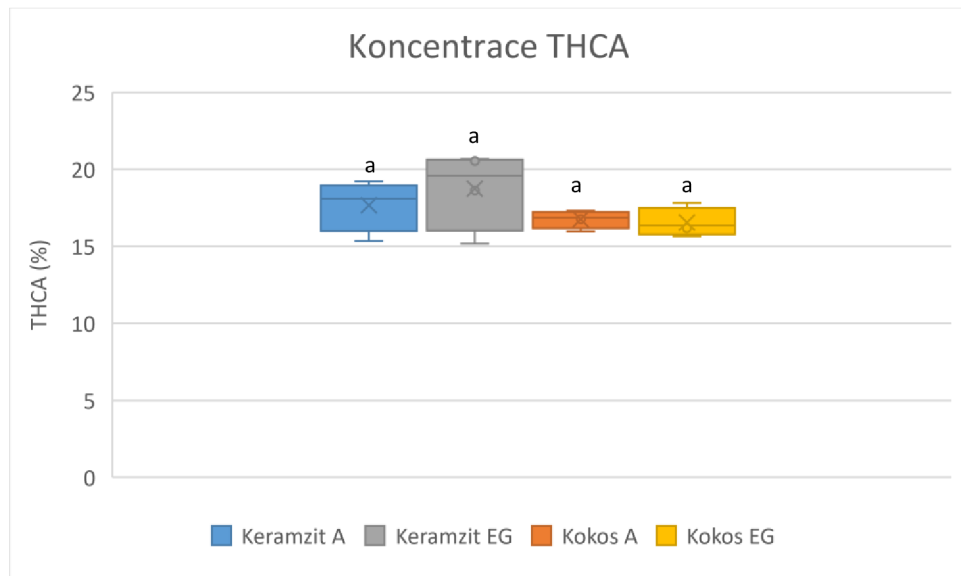


Graf 6: Výnos sušené hmoty květů. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0.05$ )

### 5.3 Koncentrace THCA

Výnos THCA byl měřen z usušené biomasy. Výsledky měření jsou zaneseny v grafu 6. Ve variantě EG byla změřena vyšší koncentrace THCA u rostlin pěstovaných na keramzitu (Ø 18,75 %). Oproti variantě na kokosovém vlákně (Ø 16,54 %) byla koncentrace u rostlin na keramzitu o 2,21 % vyšší. Ačkoliv byly změřené průměrné hodnoty vyšší, statistický signifikantní rozdíl zde nebyl. Rostliny pěstované na kokosovém vlákně však měly stabilnější hodnoty koncentrace, s rozptylem hodnot 0,9165 - oproti tomu u rostlin na keramzitu byl rozptyl hodnot 2,5638. Výsledky kontrolní varianty A také vyšly lépe pro rostliny pěstované na keramzitu (Ø 17,67 %). Rostliny pěstované na kokosovém vlákně (Ø 16,74 %) dosáhly o 0,93 % nižší koncentrace, zde tedy rozdíl není tak velký jako u varianty EG. Stejně jako u varianty EG měly rostliny pěstované na kokosovém vlákně relativně nízký rozptyl hodnot a to 0,5682. Rozptyl hodnot u rostlin na keramzitu byl 1,6491, tedy menší než u rostlin na keramzitu varianty EG. Procentuální rozdíl mezi variantami na stejných substrátech byl změřen v rádech jednotek. Mezi rostlinami pěstovanými na keramzitu byla koncentrace vyšší u varianty EG a to o 1,08 %. Výsledky rostlin pěstovaných na kokosovém substrátu byly nižší. Vyšší koncentrace THCA byla změřena u varianty A (Ø 16,74 %), to je však pouze o 0,2 % vyšší než u varianty EG (Ø 16,54 %). Tukeyho SHD test neukázal signifikantní vliv substrátu

ani výživy. Výsledky varianty EG byly však v obou případech vyšší, což poukazuje na malý, avšak pozitivní vliv použití přípravku EG.

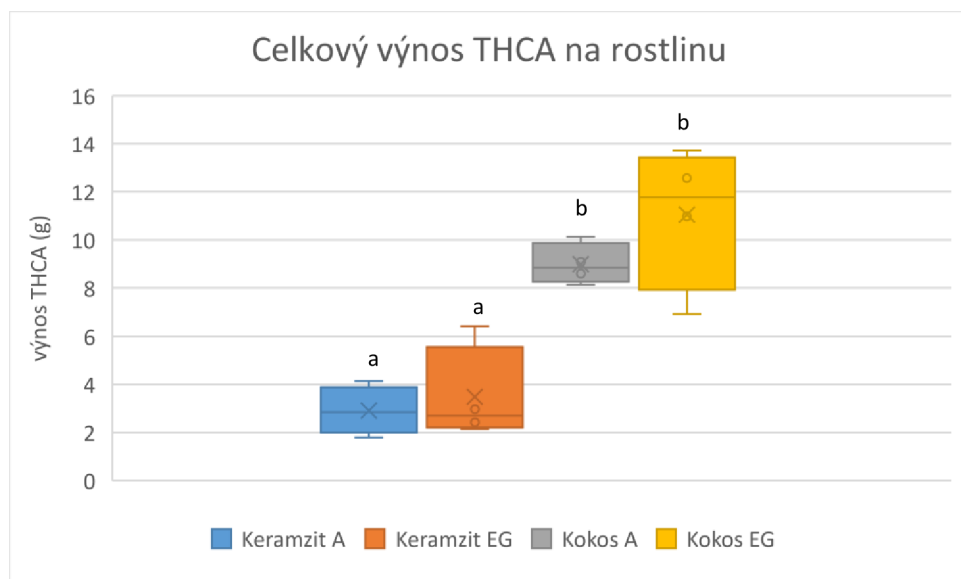


Graf 7: Koncentrace THCA. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0.05$ )

#### 5.4 Celkový výnos THCA

Celkový výnos THCA na rostlinu byl spočítán dle vztahu  $\frac{\%THCA * m_{usušené\ květy}}{100}$ . Výsledná hodnota odpovídá čisté hmotnosti THCA v gramech na jednu rostlinu. Výsledky měření jsou zaznamenány na grafu 7.

Nejvyšších hodnot výnosu THCA dosáhly rostliny varianty EG na kokosovém substrátu (Ø 11,04 g). Rostliny pěstované na keramzitu (Ø 3,49 g) měly celkový výnos o 7,55 g nižší. Rozdíl mezi substráty u kontrolní varianty A přinesl podobné výsledky. Vyšší výnos THCA byl naměřen u rostlin pěstovaných na kokosovém substrátu (Ø 8,99 g). U rostlin pěstovaných na keramzitu (Ø 2,91 g) bylo naměřeno o 6,08 g méně celkového výnosu THCA.



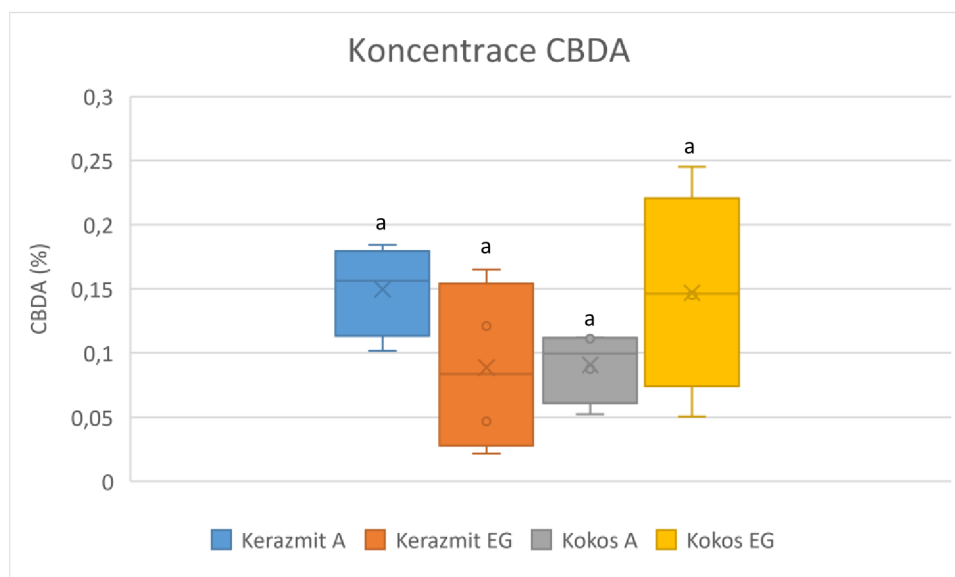
Graf 8: Výnos THCA na rostlinu. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0.05$ )

Srovnání varianty EG s kontrolní variantou ukázalo na větší výnos THCA při použití přípravku EG. Výnos THCA vychází ze vztahu koncentrace THCA a výnosu květů, vyšší celkový výnos THCA u rostlin pěstovaných na kokosovém vlákne může být vysvětlen větší tvorbou biomasy. Rostliny pěstované na kokosovém vlákne měly o 2,05 g vyšší výnos než rostliny na kokosovém vlákne z kontrolní varianty A. Rostliny pěstované na keramzitu za použití přípravku EG vykázaly výnos větší o 0,58 g oproti rostlinám z kontrolní varianty A. Tukeyho SDH ukázal signifikantní rozdíl mezi rostlinami pěstovanými na keramzitu a kokosovém vlákne.

## 5.5 Koncentrace CBDA

Stejně jako koncentrace THCA, byl výnos CBDA měřen ze sušené biomasy. Pěstované rostliny byly chemotypu I., který má nízký obsah CBDA, naměřené hodnoty koncentrace CBDA jsou tedy řádově nižší než koncentrace THCA. Výsledky měření jsou zaneseny v grafu 8.

Lepších výsledků u varianty EG dosáhly rostliny pěstované na kokosovém vlákne (Ø 0,15 %). Při srovnání s rostlinami pěstovanými na keramzitu (Ø 0,09 %) byla zjištěna zvýšená koncentrace CBDA o 0,06 % u rostlin pěstovaných na kokosovém vlákne.



Graf 9: Koncentrace CBDA. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0,05$ )

Výsledky kontrolní varianty A vyšly právě naopak. Nejvyšší koncentrace dosáhly rostliny pěstované na keramzitu (Ø 0,15 %), ty měly o 0,06 % vyšší koncentraci CBDA než rostliny pěstované na kokosovém substrátu (Ø 0,09 %).

Srovnání substrátů z obou variant tedy nepřineslo překvapivé výsledky. Srovnání rostlin pěstovaných na kokosovém vlákne ukázalo, že použití přípravku EG zvedlo koncentraci CBDA o 0,05 % oproti rostlinám z varianty A. Rostliny pěstované na keramzitu mají výsledek opačný, u rostlin pěstovaných s použitím přípravku EG byl pozorován pokles koncentrace CBDA o 0,05 %. Ačkoliv byly naměřeny rozdíly koncentrací mezi variantami i substráty, statistické hodnocení Tukeyho SHD testem neukázalo signifikantní rozdíly.



## 5.6 Celkový výnos CBDA

Celkový výnos CBDA byl spočítán dle vztahu  $\frac{\%CBDA * m_{usušené\ květy}}{100}$ . Výsledná hodnota odpovídá čisté hmotnosti CBDA v gramech na jednu rostlinu. Výsledky měření se nacházejí v grafu 9.

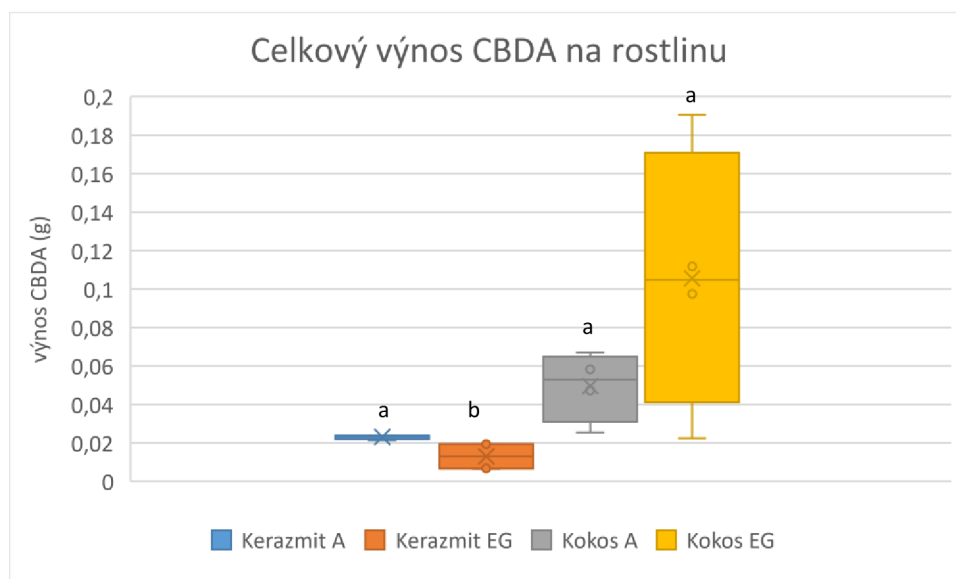
Výsledky varianty EG ukázaly větší výnos CBDA na jednu rostlinu u rostlin pěstovaných na kokosovém vlákně (Ø 0,11 g). To je o 0,1 g více než u rostlin pěstovaných na keramzitu. U rostlin pěstovaných na kokosovém vlákně byl také daleko větší rozptyl hodnot, jak je patrné z grafu. Tento rozptyl je způsoben nejvyšší naměřenou hodnotou: 0,19 g u jedné z rostlin na kokosovém substrátu.

Rostliny kontrolní varianty A měly také větší výnos CBDA na kokosovém vlákně (Ø 0,05 g). Oproti rostlinám pěstovaným na keramzitu (Ø 0,02 g) měly celkový výnos CBDA větší o 0,03 g.

Srovnání varianty EG s kontrolní variantou A ukázalo, že přídavek EG má pozitivní vliv na výnos CBDA, pokud jsou rostliny pěstovány na kokosovém substrátu. Rostliny varianty EG měly o 0,06 g vyšší výnos oproti rostlinám kontrolní varianty. Tento vztah však neplatí u rostlin pěstovaných na keramzitu, u kterých měly větší celkový výnos CBDA rostliny varianty A, a to o 0,01 g.

Větší výnosy u rostlin pěstovaných na kokosovém substrátu jsou pravděpodobně způsobeny vyšší naměřenou tvorbou biomasy květů, jelikož čistý výnos CBDA vychází ze vztahu výnosu biomasy a koncentrace CBDA.

Statistické hodnocení Tukeyho SHD testem však neukázalo signifikantní rozdíly mezi hodnocenými variantami a substráty.



Graf 10: Výnos CBDA na rostlinu. Písmena a, b; vyjadřují signifikantní rozdíl dle Tukeyho HSD testu, ( $p \leq 0.05$ )

## 6 Diskuze

Cílem experimentu bylo zmapovat a zhodnotit účinky přípravku EG obsahujícího huminové kyseliny, vitamín B1 a živiny N-P-K v poměru 2-1-4, jak se projevují v produkci biomasy a základních sekundárních metabolitech léčebného konopí (THCA, CBDA). V rámci experimentu byly pěstovány rostliny na dvou různých typech substrátu (kokosové vlákno a keramzit), aby bylo možné zjistit vliv pěstebního média na příjem a účinky huminových kyselin.

Výsledky hodnocení vlivu substrátu přinesly rozdílné výsledky u výnosu biomasy a koncentrace kanabinoidů i u výsledného celkového výnosu.

Z hlediska výnosu biomasy bylo úspěšnějším substrátem kokosové vlákno, na kterém byly ve srovnání s rostlinami pěstovanými na keramzitu u květů řádově vyšší výnosy. Ke stejnému výsledku dospěl výzkum Rodrigues et al. (2020) zaměřený na výnos biomasy listového salátu (*Lactuca sativa* L.) pěstovaného v hydroponickém systému s rozdílnými substráty a variantami výživy. V obou zkoumaných variantách výživy (standartní živný roztok pro salát, upravená průmyslová odpadní voda), měl salát větší výnos čerstvé i sušené biomasy (g) u rostlin pěstovaných na kokosovém vlákně. Autoři dokumentovali, že k těmto výsledkům vedla nižší schopnost keramzitu zadržovat vodu a živiny. K zvýšenému výnosu při použití kokosového vlákna oproti keramzitu dospěl i výzkum Dobričeviče et al. (2008), který zkoumal vliv substrátu na produkci plodů rajčat (*Lycopersicon esculentum*).

U koncentrace dvou hodnocených kanabinoidů (THCA, CBDA) byl pozorován mírný trend vyššího výnosu u rostlin pěstovaných na keramzitu. Výjimkou v tomto ohledu byla koncentrace CBDA u rostlin pěstovaných na kokosovém vlákně ve variantě EG, avšak tuto výjimku můžeme vysvětlit výskytem nejvyšší naměřené hodnoty CBDA mezi těmito rostlinami, jež mohla zkreslit výsledné hodnoty. Celkový trend koncentrace CBDA také mohl být ovlivněn zvoleným chemotypem rostlin, u kterých značně převažovalo THCA. S vyššími výnosy kanabinoidů na keramzitu oproti kokosovému vlákně souhlasí i výsledky experimentu provedeného Stalkfleet (2022). Experiment zkoumal vliv substrátu na aquaponicky pěstované rostliny konopí chemotypu s vysokým obsahem CBD a nízkým obsahem THC. Rostliny pěstované na keramzitu měly o 3 % vyšší koncentrace CBD a o 0,1 % vyšší koncentrace THC.

Použití přípravku EG obsahujícího huminové kyseliny ukázalo malý, leč pozitivní vliv na produkci biomasy i kanabinoidů na obou testovaných substrátech.

Větší míra pozitivní odezvy se ukázala u produkce biomasy. Ve výzkumu Bernestein et al. (2019) zaměřeném mimo jiné na vliv huminových kyselin na chemický profil léčebného konopí byl také pozorován přírůstek biomasy velkých listů u rostlin s přidavkem huminových kyselin. Také byl pozorován úbytek biomasy listenů květenství, ačkoliv tento úbytek nebyl statisticky relevantní.

Ve stejném výzkumu byla sledována produkce kanabinoidů THC a CBD. U obou z těchto kanabinoidů byla pozorována snížená koncentrace a to u rostlin pěstovaných s přidavkem huminových kyselin. Oproti kontrolním rostlinám klesla hodnota THC o 4 % ve vrcholových květenstvích i velkých listech. Ve stejných orgánech koncentrace CBD klesly o 0,2 %.

Rozdílné výsledky mezi pokusy mohou být způsobeny rozdílnými postupy, rostliny v již zmíněném experimentu byly pěstovány v zemině, což mohlo zapříčinit jinou dostupnost živin. Byla však pozorována snížená přirozená úroveň variability koncentrace kanabinoidů mezi jednotlivými orgány rostlin konopí a rostlin pěstovaných s přidavkem huminových kyselin. Bernestein et al (2019) předpokládají, že zvýšená uniformita biomasy rostlin konopí měla za následek již zmíněné snížené koncentrace THC a CBD u vrcholových květenství a velkých listů. Vliv huminových kyselin na produkci sekundárních metabolitů již pozorován byl,

například u čekanky (Gholami et al. 2018), mechanismus fungování Bernestein et al. (2019) považují zatím za nedostatečně prozkoumaný.

Vliv huminových kyselin na rostlinou produkci byl zkoumán i Akladious & Mohamed (2018). Experiment byl zaměřený na produkci biomasy, růst a biochemické vlastnosti paprik (*Capsicum annum*) pěstovaných pod solným stresem. Výsledky pokusu ukázaly na zvýšenou kvalitu rostlin s doplňkem huminových kyselin oproti kontrolním rostlinám. U těchto rostlin byly pozorovány vyšší koncentrace chlorofylu a i b. Byly také pozorovány zvýšené koncentrace sekundárních metabolitů (antokyany, kyselina askorbová). Produkce biomasy a také kvalita plodů byla zvýšená u rostlin pěstovaných s doplňkem huminových kyselin. Huminové kyseliny byly dodány ve dvou koncentracích (1500, 750 mg na kg půdy) a lepší výsledky přinesla vyšší koncentrace huminových kyselin. Akladious & Mohamed (2018) navrhuje, že zlepšený růst a lepší tolerance stresu za použití huminových kyselin jsou způsobeny zvýšenou schopností zadržovat vodu a živiny pěstebním médiem, v tomto případě půdou.

V rámci experimentu byl zkoumán i čistý výnos již zmíněných kanabinoidů (THCA, CBDA). Ačkoliv byly nejvyšší koncentrace THCA a CBDA pozorovány u rostlin pěstovaných na keramzitu, nejvyšší čisté výnosy byly u rostlin pěstovaných na kokosovém vlákne. Rostliny pěstované na kokosovém vlákne byly signifikantně silnějšího vzrůstu a jelikož celkový výnos vychází ze vztahu množství biomasy a koncentrace kanabinoidů, celkový výnos zde byl větší. Tento vztah byl potvrzen i statistickým hodnocením. Statistický rozdíl mezi těmito variantami pozorován nebyl, jsou ale pozorovatelné trendy malého nárůstu celkového výnosu THCA u rostlin pěstovaných s použitím huminových kyselin, a to na obou substrátech. Z těchto trendů můžeme vyvodit, že výzkumem do budoucna by mohl být experiment zaměřený na vliv koncentrace dodaných huminových kyselin.

## 7 Závěr

Užití a produkce konopí jako léčebné drogy má dlouhou historii. Díky formálnímu přijetí konopí farmaceutickým průmyslem a současnému trendu legalizace a dekriminlizace po celém světě, je tento obor v posledních letech svědkem obrovského růstu.

Konopí je jednoletá krátkodenní rostlina dorůstající až pěti metrů. Je dvoudomá, tvoří tedy rozdílné samčí a samičí květy. Pro léčebné účely mají význam samičí rostliny konopí, jelikož na samičích květech se nacházejí žláznaté trichomy zodpovědné za produkci účinných látek konopí – kanabinoidů. Jedná se o skupinu 22 uhlíkových terpenofenolických sekundárních metabolitů, jichž bylo v konopí popsáno více než 150 druhů. Nejvýznamnějšími kanabinoidy pro léčebné účely jsou tetrahydrokanabinol a kanabinodiol. Pozitivní účinky těchto dvou kanabinoidů byly popsány při léčbě onkologických pacientů, při léčbě Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy choroby, mají také analgetické, sedativní, anxiolytické a antipsychotické účinky. Potenciál těchto látek je velký, dosud však zatím není kompletně prozkoumán.

Produkce konopí pro léčebné účely je prováděna ve specializovaných vnitřních podmínkách, aby byla zajištěna bezpečnost, čistota prostředí a specifické nároky na postupy pro vytvoření žádaných chemických profilů zaměřených na konkrétní léčbu. Existuje tedy tlak na optimalizaci produkce biomasy i výnosu jednotlivých kanabinoidů. Jedním z možných nástrojů kontroly produkce může být hydroponické pěstování, jelikož nám umožňuje kompletní kontrolu nad dostupnými živinami. Dalším z nástrojů optimalizace produkce mohou být biostimulanty. Tato skupina látek je relativně neprozkoumaná. Jedná se o látky podporující růst rostlin, aniž by se jednalo o hnojiva nebo pesticidy. Jejich role spočívá ve zvyšování tolerance k abiotickým stresům a zvyšování využití živin rostlinami. Jejich výhodou je také nízký enviromentální dopad, jelikož jsou přírodního původu. Příkladem jsou huminové a fulvo kyseliny, proteinové hydrolázy, či houby rodu *Trichoderma*.

V rámci experimentální části byl testován vliv přípravku Emerald Goddess obsahujícího huminové kyseliny a vitamín B1 u rostlin pěstovaných na dvou různých substrátech (kokosové vlákno, keramzit). U rostlin pěstovaných na keramzitu byly pozorovány vyšší úrovně koncentrací kanabinoidů v jejich kyselinových formách. Úrovně koncentrací kanabinoidů se pohybovaly v rozmezí 16,74 – 18,75 % pro kyselinu tetrahydrokanabinolovou a 0,09 – 0,15 % pro kyselinu kanabidiolovou. Řádově vyšší výnosy biomasy byly pozorovány u rostlin pěstovaných na kokosovém vlákně v obou variantách pokusu. Výsledky hodnocení celkového výnosu kanabinoidů v kyselinových formách, přepočtené na jednu rostlinu, ukázaly na vyšší výnosy rostlin pěstovaných na kokosovém vlákně u obou variant. Tento výsledek není překvapivý, jelikož celkový výnos kanabinoidů vychází ze vztahu množství biomasy a koncentrace kanabinoidů. Účinky huminových kyselin byly pozorovány jako pozitivní, nebyly však statisticky průkazné. Budoucím trendem by tedy měl být výzkum zaměřený na vyšší koncentraci huminových kyselin.

## 8 Literatura

- Amaducci S, Colauzzi M, Bellocchi G, Cosentino SL, Pahkala K, Stomph TJ, Westerhuis W, Zatta A, Venturi G. 2012. Evaluation of a phenological model for strategic decisions for hemp (*Cannabis Sativa* L.) biomass production across European sites. *Industrial Crops and Products* **37**:100-110. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669011004390> (accessed February 19, 2023).
- Adams R, Hunt M, Clark JH. 1940. Structure of Cannabidiol, a Product Isolated from the Marihuana Extract of Minnesota Wild Hemp. I. *Journal of the American Chemical Society* **62**:196-200. Available at <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01858a058> (accessed March 24, 2023)
- Akladios SA, Mohamed HI. 2018. Ameliorative effects of calcium nitrate and humic acid on the growth, yield component and biochemical attribute of pepper (*Capsicum annum*) plants grown under salt stress. *Scientia Horticulturae* **236**:244-250. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423818302231> (accessed April 7, 2023).
- Atanasova L, Crom SL, Gruber S, Couplier F, Seidl-Seiboth V, Kubicek CP, Druzhinina IS. 2013. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma mycoparasitism*. *BMC Genomics* **14**. Available at <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-14-121> (accessed March 24, 2023).
- Barker AV, Pilbeam DJ. 2015. *Handbook of Plant Nutrition*. 2nd edition. CRC, Boca Raton.
- Battacharyya D, Babgohari MZ, Rathor P, Prithiviraj B. 2015. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae* **196**:39-48. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030442381530176X> (accessed February 26, 2023).
- Bengyella L, Kuddus M, Mukherjee P, Fonmboh DJ, Kaminski JE. 2022. Global impact of trace non-essential heavy metal contaminants in industrial cannabis bioeconomy. *Toxin Reviews* **41**:1215-1225. Available at <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15569543.2021.1992444> (accessed February 28, 2023).
- Bernstein N, Gorelick J, Zerahia R, Koch S. 2019. Impact of N, P, K, and Humic Acid Supplementation on the chemical profile of medical Cannabis (*Cannabis sativa* L). *Frontiers in Plant Science* **10**. Available at <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2019.00736/full> (accessed February 26, 2023).
- Bevan L, Jones M, Zheng Y. 2021. Optimisation of nitrogen, phosphorus, and potassium for soilless production of *Cannabis sativa* in the flowering stage using response surface analysis. *Frontiers in Plant Science* **12**. Available at <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.764103/full> (accessed February 26, 2023).
- Bohlmann F, Hoffmann E. 1979. Cannabigerol-ähnliche Verbindungen aus *Helichrysum umbraculigerum*. *Phytochemistry* **1979**:1371-1374.
- Boyd ST. 2006. The Endocannabinoid System. *Pharmacotherapy* **26**:218S-221S. Available at <http://doi.wiley.com/10.1592/phco.26.12part2.218S> (accessed February 24, 2023).
- Carlson CH et al. 2021. Morphometric relationships and their contribution to biomass and cannabinoid yield in hybrids of hemp (*Cannabis sativa*). *Journal of Experimental Botany* **72**:7694-7709. Available at <https://academic.oup.com/jxb/article/72/22/7694/6324878> (accessed March 24, 2023).
- Canellas LP, Olivares FL, Aguiar NO, Jones DL, Nebbioso A, Mazzei P, Piccolo A. 2015. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae* **196**:15-27. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423815301771> (accessed February 26, 2023).

- Caplan D, Dixon M, Zheng Y. 2017. Optimal rate of organic fertilizer during the flowering stage for Cannabis grown in two coir-based substrates. *HortScience* **52**:1796-1803. Available at <https://journals.ashs.org/view/journals/hortsci/52/12/article-p1796.xml> (accessed February 26, 2023).
- Cerdán M, Sánchez-Sánchez A, Oliver M, Juárez M, Sánchez-Andreu JJ. 2009. Effect of foliar and root applications of amino acids on iron uptake by tomato plants. *Acta Horticulturae*:481-488. Available at [https://www.actahort.org/books/830/830\\_68.htm](https://www.actahort.org/books/830/830_68.htm) (accessed February 26, 2023).
- Cervantes J. 2006. *Marihuana horticulture the indoor/outdoor medical grower's bible*. 1st edition. Van Patten Publishing, Portland.
- Clarke RC. 1998. *Hashish!*. 1st edition. Red Eye Press, Los Angeles.
- Colla G, Nardi S, Cardarelli M, Ertani A, Lucini L, Canaguier R, Roupheal Y. 2015. Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae* **196**:28-38. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423815301564> (accessed February 26, 2023).
- Conant RT, Walsh RP, Walsh M, Bell CW, Wallenstein MD. 2017. Effects of a microbial biostimulant, Mammoth PTM, on Cannabis sativa bud yield. *Journal of Horticulture* **04**. Available at <https://www.esciencecentral.org/journals/effects-of-a-microbial-biostimulant-mammoth-ptm-on-cannabis-sativa-bud-yield-2376-0354-1000191.php?aid=85798> (accessed February 26, 2023).
- Corte L et al. 2014. Assessment of safety and efficiency of nitrogen organic fertilizers from animal-based protein hydrolysates-a laboratory multidisciplinary approach. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **94**:235-245. Available at <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.6239> (accessed February 26, 2023).
- Cracker L, Romm A, Russo E, Sexton M, Upton R, ElSolhy M. 2014. *Cannabis inflorescence : cannabis spp. ; standards of identity, analysis, and quality control*. 1st edition. American Herbal Pharmacopoeia, Scotts Valley.
- Craigie JS. 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology* **23**:371-393. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10811-010-9560-4> (accessed February 26, 2023).
- Crispim Massuela D, Hartung J, Munz S, Erpenbach F, Graeff-Hönniger S. 2022. Impact of harvest time and pruning technique on total CBD concentration and yield of medicinal Cannabis. *Plants* **11**. Available at <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/1/140> (accessed February 25, 2023).
- Danziger N, Bernstein N. 2021. Shape matters: Plant architecture affects chemical uniformity in large-size medical Cannabis plants. *Plants* **10**. Available at <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/9/1834> (accessed February 25, 2023).
- Di Marzo V, Matias I. 2005. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nature Neuroscience* **8**:585-589. Available at <http://www.nature.com/articles/nn1457> (accessed February 24, 2023).
- Dobričević N, Voća S, Borođić J, Novak B. 2008. Effect of substrate on tomato quality. *Acta Horticulturae*:485-490. Available at [https://www.actahort.org/books/779/779\\_61.htm](https://www.actahort.org/books/779/779_61.htm) (accessed April 5, 2023).
- du Jardin P. 2015. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* **196**:3-14. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423815301850> (accessed January 26, 2023).
- El Komy MH, Saleh AA, Eranthodi A, Molan YY. 2015. Characterization of novel Trichoderma asperellum isolates to select effective biocontrol agents against tomato Fusarium wilt. *The Plant Pathology Journal* **31**:50-60. Available at <https://www.ppjonline.org/journal/view.php?id=10.5423/PPJ.OA.09.2014.0087> (accessed February 26, 2023).

- ElSohly MA. 2007. Marijuana and the cannabinoids. Humana Press, Totowa, NJ.
- ElSohly MA, Gul W, Wanas AS, Radwan MM. 2014. Synthetic cannabinoids: Analysis and metabolites. *Life Sciences* **97**:78-90. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320514000071> (accessed February 20, 2023).
- ElSohly MA, Radwan MM, Gul W, Chandra S, Galal A. 2017. Phytochemistry of Cannabis sativa L. 1-36in *Phytocannabinoids*. Springer International Publishing, Cham. Available at [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-45541-9\\_1](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-45541-9_1) (accessed February 19, 2023).
- Eubanks LM, Rogers CJ, Beuscher, Koob GF, Olson AJ, Dickerson TJ, Janda KD. 2006. A molecular link between the active component of marijuana and Alzheimer's disease pathology. *Molecular Pharmaceutics* **3**:773-777. Available at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/mp060066m> (accessed February 20, 2023).
- Fairbairn JW, Liebmann JA, Rowan MG. 1976. The stability of cannabis and its preparations on storage. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **28**:1-7. Available at <https://academic.oup.com/jpp/article/28/1/1/6196321> (accessed February 25, 2023).
- Filho JFDCL, Chim BK, Bermand C, Thomason WE, Diatta AA. 2022. Effect of biostimulants on cannabis productivity and soil microbial activity under plasticulture conditions. 1st edition. -. Available at <https://assets.researchsquare.com/files/rs-2050388/v1/1aced9-95f0-4bf9-b256-12a8317e843a.pdf?c=1664201676>.
- Flores-Sanchez IJ, Verpoorte R. 2008. Secondary metabolism in cannabis. *Phytochemistry Reviews* **7**:615-639. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s11101-008-9094-4> (accessed February 18, 2023).
- Gholami H, Raouf Fard F, Saharkhiz MJ, Ghani A. 2018. Yield and physicochemical properties of inulin obtained from Iranian chicory roots under vermicompost and humic acid treatments. *Industrial Crops and Products* **123**:610-616. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669018306319> (accessed April 7, 2023).
- Gloss D. 2015. An overview of products and bias in research. *Neurotherapeutics* **12**:731-734. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s13311-015-0370-x> (accessed February 25, 2023).
- Green G. 2017. *The Cannabis grow Bible: The definitive guide to growing marijuana for recreational and medicinal Use*. 3rd edition. Green Candy Press, São Francisco.
- Hampson AJ, Grimaldi M, Axelrod J, Wink D. 1998. Cannabidiol and (-) $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **95**:8268-8273. Available at <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.95.14.8268> (accessed February 20, 2023).
- Haney A, Kutscheid BB. 1975. An Ecological Study of Naturalized Hemp (*Cannabis sativa* L.) in East-Central Illinois. *American Midland Naturalist* **93**. Available at <https://www.jstor.org/stable/2424101?origin=crossref> (accessed March 25, 2023).
- Hayes MHB. 2006. Solvent Systems for the isolation of organic components from soils. *Soil Science Society of America Journal* **70**:986-994. Available at <http://doi.wiley.com/10.2136/sssaj2005.0107> (accessed February 26, 2023).
- Hillig KW, Mahlberg PG. 2004. A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in Cannabis (*Cannabaceae*). *American Journal of Botany* **91**:966-975. Available at <http://doi.wiley.com/10.3732/ajb.91.6.966> (accessed February 18, 2023).
- Chacon FT, Raup-Konsavage WM, Vrana KE, Kellogg JJ. 2022. Secondary terpenes in Cannabis sativa L: Synthesis and Synergy. *Biomedicines* **10**. Available at <https://www.mdpi.com/2227-9059/10/12/3142> (accessed February 20, 2023).



- Chamberlain D. 2019. CBD growers guide high Altitude school of hydroponics. 1st edition. High Altitude School of Hydroponics, Loveland. Available at [https://www.researchgate.net/publication/345012162\\_CBD\\_Growers\\_Guide\\_High\\_Altitude\\_School\\_of\\_Hydroponics](https://www.researchgate.net/publication/345012162_CBD_Growers_Guide_High_Altitude_School_of_Hydroponics) (accessed February 25, 2023).
- Chandra S, Lata H, Khan IA, Elsohly MA. 2008. Photosynthetic response of *Cannabis sativa* L. to variations in photosynthetic photon flux densities, temperature and CO<sub>2</sub> conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants* **14**:299-306. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s12298-008-0027-x> (accessed February 19, 2023).
- Izzo AA, Borrelli F, Capasso R, Di Marzo V, Mechoulam R. 2009. Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in Pharmacological Sciences* **30**:515-527. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016561470900128X> (accessed February 20, 2023).
- Jin D, Henry P, Shan J, Chen J. 2021. Identification of phenotypic characteristics in three chemotype categories in the genus *Cannabis*. *HortScience* **56**:481-490. Available at <https://journals.ashs.org/view/journals/hortsci/56/4/article-p481.xml> (accessed February 24, 2023).
- Jin D, Jin S, Chen J. 2019. Cannabis indoor growing conditions, management practices, and post-harvest treatment: A Review. *American Journal of Plant Sciences* **10**:925-946. Available at <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/ajps.2019.106067> (accessed February 25, 2023).
- Kauffman GL, Kneivel DP, Watschke TL. 2007. Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial Ryegrass. *Crop Science* **47**:261-267. Available at <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2135/cropsci2006.03.0171> (accessed February 26, 2023).
- Kavia RBC, De Ridder D, Constantinescu CS, Stott CG, Fowler CJ. 2010. Randomized controlled trial of Sativex to treat detrusor overactivity in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal* **16**:1349-1359. Available at <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1352458510378020> (accessed February 20, 2023).
- Kubánek V. 2009. Konopí a mák: (pěstování, výroby, legislativa). V Tribunu EU vyd. 2. Tribun EU, Brno.
- Lisiecka J, Knaflewski M, Spizewski T, Frąszczak B, Kalużewicz A, Krzesiński W. 2011. The effect of animal protein hydrolysate on quantity and quality of strawberry daughter plants cv. 'Elsanta'. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* -:31-40. Available at <https://czasopisma.up.lublin.pl/index.php/asphc/article/view/3173> (accessed February 26, 2023).
- Lisson SN, Mendham NJ, Carberry PS. 2000. Development of a hemp (*Cannabis sativa* L.) simulation model 2. The flowering response of two hemp cultivars to photoperiod. *Australian Journal of Experimental Agriculture* **40**. Available at <http://www.publish.csiro.au/?paper=EA99059> (accessed February 19, 2023).
- López-Bucio J, Pelagio-Flores R, Herrera-Estrella A. 2015. Trichoderma as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae* **196**:109-123. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030442381530162X> (accessed February 26, 2023).
- Malík M, Velechovský J, Tlustoš P. 2021. The overview of existing knowledge on medical cannabis plants growing. *Plant, Soil and Environment* **67**:425-442. Available at <http://pse.agriculturejournals.cz/doi/10.17221/96/2021-PSE.html> (accessed January 26, 2023).
- Manjutah N. 2023. Cannabis cuttings - how to clone cannabis from autoflowering plants?. -, Barcelona. Available at <https://2fast4buds.com/news/Can-I-Make-Clones-from-Autoflowering-Plants> (accessed February 28, 2023).



- McPartland JM. 2018. Cannabis systematics at the levels of family, genus, and species. *Cannabis and Cannabinoid Research* **3**:203-212. Available at <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/can.2018.0039> (accessed February 19, 2023).
- Mechoulam R, Gaoni Y. 1967. Recent advances in the chemistry of hashish. 175-213in *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products / Progrès dans la Chimie des Substances Organiques Naturelles*. Springer Vienna, Vienna. Available at [http://link.springer.com/10.1007/978-3-7091-8164-5\\_6](http://link.springer.com/10.1007/978-3-7091-8164-5_6) (accessed February 20, 2023).
- Mel T. 2012. *Cannabis cultivation, a complete grower's guide*. 3rd edition. Green Candy Press, San Francisco.
- Merlin MD. 1972. *Man and marijuana: some aspects of their ancient relationship*. 1st edition. Fairleigh Dickinson University Press, -.
- Meyer FG, Trueblood EWE, Heller JL, Fuchs L. 1999. The great herbal of Leonhart Fuchs: *De historia stirpium commentarii insignes*, 1542 (notable commentaries on the history of plants). Stanford University Press, Stanford, Calif.
- Miovský M. 2008. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. Grada, Praha.
- Morimoto S, Tanaka Y, Sasaki K, Tanaka H, Fukamizu T, Shoyama Y, Shoyama Y, Taura F. 2007. Identification and characterization of cannabinoids that induce cell death through mitochondrial permeability transition in cannabis leaf cells. *Journal of Biological Chemistry* **282**:20739-20751. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819780661> (accessed February 20, 2023).
- Mossor-Pietraszewska T. 2001. Effect of aluminium on plant growth and metabolism. *Acta Biochimica Polonica* **48**:673-686. Available at <https://ojs.ptbioch.edu.pl/index.php/abp/article/view/3902> (accessed March 24, 2023).
- Ortiz-Castro R, Contreras-Cornejo HA, Macias-Rodríguez L, López-Bucio J. 2014. The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signaling & Behavior* **4**:701-712. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/psb.4.8.9047> (accessed February 26, 2023).
- Pertwee RG. 2006. Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *British Journal of Pharmacology* **147**:S163-S171. Available at <http://doi.wiley.com/10.1038/sj.bjp.0706406> (accessed February 20, 2023).
- Petit J, Salentijn EMJ, Paulo M-J, Denneboom C, Trindade LM. 2020. Genetic architecture of flowering time and sex determination in hemp (*Cannabis sativa* L.): A Genome-Wide Association Study. *Frontiers in Plant Science* **11**. Available at <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.569958/full> (accessed February 19, 2023).
- Piccolo A. 1996. Humus and soil conservation. 225-264in *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*. Elsevier. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444815163500062> (accessed February 26, 2023).
- Piccolo A. 2012. The nature of soil organic matter and innovative soil managements to fight global changes and maintain agricultural productivity. 1-19in *Carbon Sequestration in Agricultural Soils*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. Available at [https://link.springer.com/10.1007/978-3-642-23385-2\\_1](https://link.springer.com/10.1007/978-3-642-23385-2_1) (accessed February 26, 2023).
- Piomelli D, Russo EB. 2016. The cannabis sativa versus cannabis indica Debate: An interview with Ethan Russo, MD. *Cannabis and Cannabinoid Research* **1**:44-46. Available at <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/can.2015.29003.ebr> (accessed February 20, 2023).
- Potter DJ. 2014. A review of the cultivation and processing of cannabis (*Cannabis sativa* L.) for production of prescription medicines in the UK. *Drug Testing and Analysis* **6**:31-38. Available at <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dta.1531> (accessed February 25, 2023).

- Radosavljevic-Stevanovic N, Markovic J, Agatonovic-Kustrin S, Razic 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. Available at <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2014.880912> (accessed February 26, 2023).
- Rahn EJ, Hohmann AG. 2009. Cannabinoids as pharmacotherapies for neuropathic pain: From the bench to the bedside. *Neurotherapeutics* **6**:713-737. Available at <http://link.springer.com/10.1016/j.nurt.2009.08.002> (accessed February 20, 2023).
- Rani RS, Kumar HVH, Mani A, Reddy BS, Rao CS. 2022. Soilless cultivation technique, hydroponics - a review. *Current Journal of Applied Science and Technology*:22-30. Available at <https://journalcjast.com/index.php/CJAST/article/view/3857> (accessed February 25, 2023).
- Resh HM. 2022. Hydroponic food production. CRC Press, New York.
- Robert J.J.Ch L, Ludwig Bercht CA, van Ooyen R, Spronck HJW. 1977. Cannabinodiol: conclusive identification and synthesis of a new cannabinoid from Cannabis sativa. *Phytochemistry* **16**:595-597. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/003194227780023X> (accessed February 20, 2023).
- Rodrigues S, Carvalho F, Almeida A, Guerreiro I, Prazeres A, Regato M. 2020. Lettuce culture in semi-hydroponics with a normal nutrient solution and using treated wastewater. *Trends in Horticulture* **3**:49-54. Available at <http://systems.enpress-publisher.com/index.php/TH/article/view/1785> (accessed April 5, 2023).
- Rose MT, Patti AF, Little KR, Brown AL, Jackson WR, Cavagnaro TR. 2014. A Meta-Analysis and review of plant-growth response to humic substances. 37-89in . Elsevier. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128001387000024> (accessed February 26, 2023).
- Ross SA, ElSohly MA, Sultana GNN, Mehmedic Z, Hossain CF, Chandra S. 2005. Flavonoid glycosides and cannabinoids from the pollen of Cannabis sativa L. *Phytochemical Analysis* **16**:45-48. Available at <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pca.809> (accessed February 21, 2023).
- Rouphael Y, Franken P, Schneider C, Schwarz D, Giovannetti M, Agnolucci M, Pascale SD, Bonini P, Colla G. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* **196**:91-108. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423815301667> (accessed February 26, 2023).
- Rupasinghe HPV, Davis A, Kumar SK, Murray B, Zheljzkov VD. 2020. Industrial hemp (Cannabis sativa subsp. sativa) as an emerging source for value-added functional food ingredients and nutraceuticals. *Molecules* **25**. Available at <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/18/4078> (accessed February 25, 2023).
- Russo EB, Hohmann AG. 2013. Role of cannabinoids in pain management. 181-197in *Comprehensive Treatment of Chronic Pain by Medical, Interventional, and Integrative Approaches*. Springer New York, New York, NY. Available at [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-1560-2\\_18](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-1560-2_18) (accessed February 20, 2023).
- Russo E, Guy GW. 2006. A tale of two cannabinoids: The therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Medical Hypotheses* **66**:234-246. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306987705004317> (accessed February 20, 2023).
- Saloner A, Bernstein N. 2021. Nitrogen supply affects cannabinoid and terpenoid profile in medical cannabis (Cannabis sativa L.). *Industrial Crops and Products* **167**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669021002806> (accessed February 26, 2023).
- Saloner A, Sacks MM, Bernstein N. 2019. Response of Medical Cannabis (Cannabis sativa L.) Genotypes to K supply under long photoperiod. *Frontiers in Plant Science* **10**. Available at <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2019.01369/full> (accessed February 26, 2023).

Sbrana C, Avio L, Giovannetti M. 2014. Beneficial mycorrhizal symbionts affecting the production of health-promoting phytochemicals. *ELECTROPHORESIS* **35**:1535-1546. Available at <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elps.201300568> (accessed February 26, 2023).

Shiponi S, Bernstein N. 2021. Response of medical cannabis (*Cannabis sativa* L.) genotypes to P supply under long photoperiod: Functional phenotyping and the ionome. *Industrial Crops and Products* **161**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669020310712> (accessed February 26, 2023).

Schuetz M, Savile C, Webb C, Rouzard K, Fernandez JR, Perez E. 2021. 480 Cannabigerol: The mother of cannabinoids demonstrates a broad spectrum of anti-inflammatory and anti-microbial properties important for skin. *Journal of Investigative Dermatology* **141**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X21007296> (accessed February 20, 2023).

Singh K, Tripathi S, Chandra R. 2023. Bacterial assisted phytoremediation of heavy metals and organic pollutants by *Cannabis sativa* as accumulator plants growing on distillery sludge for ecorestoration of polluted site. *Journal of Environmental Management* **332**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479723000828> (accessed February 18, 2023).

Sladký V. 2004. *Konopí, šance pro zemědělství a průmysl. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha.*

Small E. 2016. *Cannabis*. CRC Press.

Small E. 2015. Evolution and classification of *Cannabis sativa* (marijuana, hemp) in relation to human utilization. *The Botanical Review* **81**:189-294. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s12229-015-9157-3> (accessed February 18, 2023).

Stalkfleet KM. 2022. Nutrient manipulation and media selection in decoupled aquaponics for growing *Cannabis sativa*. Diplomová práce. Tucson, USA.

Šmirous P, Vrbová M, Vaculík A. 2017. *Komplexní metodika pěstování konopí*. 1st edition. Agritec, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o, Šumperk.

Taura F, Morimoto S, Shoyama Y. 1996. Purification and characterization of cannabidiolic-acid synthase from *Cannabis sativa* L. *Journal of Biological Chemistry* **271**:17411-17416. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925818313498> (accessed February 20, 2023).

Toth JA, Stack GM, Carlson CH, Smart LB. 2022. Identification and mapping of major-effect flowering time loci *Autoflower1* and *Early1* in *Cannabis sativa* L. *Frontiers in Plant Science* **13**. Available at <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.991680/full> (accessed February 25, 2023).

Trancoso I, de Souza GAR, dos Santos PR, dos Santos KD, de Miranda RM dos SN, da Silva ALPM, Santos DZ, García-Tejero IF, Campostrini E. 2022. *Cannabis sativa* L: crop management and abiotic factors that affect phytocannabinoid production. *Agronomy* **12**. Available at <https://www.mdpi.com/2073-4395/12/7/1492> (accessed February 25, 2023).

Valíček P. 2003. *Léčivé rostliny a omamné drogy*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, V Brně.

van der Werf HMG, Haasken HJ, Wijlhuizen M. 1994. The effect of daylength on yield and quality of fibre hemp (*Cannabis sativa* L.). *European Journal of Agronomy* **3**:117-123. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1161030114801172> (accessed February 19, 2023).

Verma N, Shukla S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* **2**:105-113. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214786115300152> (accessed February 25, 2023).

Watts G. 2006. Cannabis confusions. *BMJ* **332**:175-176. Available at <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.332.7534.175> (accessed February 18, 2023).

Yep B, Zheng Y, Beres B. 2021. 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. Available at <https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/cjps-2020-0107> (accessed February 26, 2023).

#### Grafické zdroje

Bhagawati R, Shantonu P, Dambale AS. 2020. Deep water culture system of hydroponics. Available at [https://www.researchgate.net/figure/Deep-water-culture-system-of-hydroponics\\_fig1\\_348003824](https://www.researchgate.net/figure/Deep-water-culture-system-of-hydroponics_fig1_348003824) (accessed March 3, 2023).

Flores-Sanchez IJ, Verpoorte R. 2008. Biosyntéza kanabinoidů. Available at <https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-008-9094-4> (accessed February 28, 2023).

Fuchs L, Meyer A, Füllmaurer H, Rudolph Speckle VR. *De Historia Stirpium: Cannabis sativa*. Available at [https://huntbot.org/library/fuchs-de-historia-stirpium/Fuchs\\_301-400\\_r.pdf](https://huntbot.org/library/fuchs-de-historia-stirpium/Fuchs_301-400_r.pdf) (accessed February 28, 2023).

Gonçalves PJS. 2015. An automatic mechanical system for hydroponics fodder production. Available at [https://www.researchgate.net/figure/NFT-hydroponic-system\\_fig1\\_286469467](https://www.researchgate.net/figure/NFT-hydroponic-system_fig1_286469467) (accessed March 2, 2023).

Staff Tcom. 2022. Ebb & Flow (Flood and Drain) Hydroponic System. Available at <https://www.trees.com/gardening-and-landscaping/ebb-and-flow-hydroponics> (accessed March 2, 2023).