

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí



Vliv sucha na rostliny *Cannabis sativa* L.
v in vitro podmínkách

Adéla Maršálková

Bakalářská práce

předložená

na Katedře ekologie a životního prostředí
Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

jako součást požadavků
k získání titulu Bc. v oboru
Ekologie a ochrana životního prostředí

Vedoucí práce: Ing. Josef Baltazar Šenkyřík

Olomouc 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením Ing. Josefa Baltazara Šenkyříka a jen s použitím citovaných literárních pramenů.

V Olomouci, dne 3.5.2023

Souhrn

Předložená práce se zabývá studiem reakce konopí setého (*Cannabis sativa* L.), genotypu USO 31 (Agritec, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o., Šumperk) na vodní deficit způsobený osmoticky aktivními látkami manitol a polyethylenglykol, které byly přidány do živného média ViVi 6 (Duchefa Farma B.V., Haarlem, Nizozemsko).

V první části této práce je rostlina konopí popsána, je vysvětleno její možné využití a nároky na pěstování. Dále jsou popsány významné abiotické faktory, které jako stresory působí na rostliny, jako extrémní teploty a světlo a hlavní důraz byl kladen na sucho v krajině. V neposlední řadě je v této práci popsána technika *in vitro* kultivace rostlin.

Porovnáváno bylo působení manitolu a polyethylenglykolu, jakožto dvou osmoticky aktivních látek, které lze využít při pozorování reakcí rostlin na snížení vodního potenciálu v *in vitro* podmínkách. Sledována byla celková vitalita rostlin, hmotnost čerstvé a suché biomasy, relativní obsah vody v pletivech rostlin a délka přírůstků prýtů celkem u 240 rostlin ve dvou biologických opakováních. Ve výsledku bylo zjištěno, že osmoticky aktivní látka manitol byla pro tuto metodiku lepší než druhá pozorovaná látka.

Klíčová slova

In vitro; klima; konopí; manitol; množení rostlin; polyethylenglykol; sucho.

Summary

The presented work deals with the study of the response of hemp (*cannabis sativa* L.) of the genotype USO 31 (Agritec Plant Research Ltd., Šumperk, Czech Republic) to the water deficit caused by the osmotically active substances mannitol and polyethylene glycol, which were added to the nutrient plant medium ViVi6 (Duchefa Farma B.V., Haarlem, Netherlands).

In the first part of this thesis, the hemp plant is described, its possible use and cultivation demands are explained. Furthermore, important abiotic factors that act as stressors on plants are described, such as extreme temperatures, light, and the main emphasis was placed on drought in the landscape. Last but not least, the technique of *in vitro* cultivation of plants is described in this thesis. The effects of mannitol and polyethylene glycol were compared, as two osmotically active substances that can be used to observe plant reactions to a reduction in water potential in *in vitro* conditions. The vitality of plants, the weight of fresh and dry biomass, the relative water content in plant tissue and the length of shoot increments in a total of 240 plants were monitored in two observations. As a result, it was found that the osmotically active substance mannitol was better for this methodology than the other observed substance.

Key words

Climate; drought; hemp; *in vitro*; mannitol; plant propagation; polyethyleneglycol.

Poděkování

Moje poděkování za pomoc a podporu při řešení problému patří především vedoucímu mé závěrečné práce Ing. Josefu Baltazarovi Šenkyříkovi. Rovněž bych chtěla poděkovat všem pracovníkům na katedře botaniky PřF UPOL, za velmi tolerantní přístup a pomoc v době mého výzkumu v laboratořích. V neposlední řadě děkuji i mé rodině, která mi během mého psaní poskytovala psychickou podporu a zázemí.

V Olomouci, 30. dubna 2023

Obsah

SEZNAM TABULEK	VII
SEZNAM OBRÁZKŮ	VII
ÚVOD	1
CÍLE PRÁCE	2
1. CANNABIS SATIVA L.	3
1.1 TAXONOMIE	3
1.2 BIOLOGICKÁ A MORFOLOGICKÁ CHARAKTERIZACE	4
1.3 HISTORIE VYUŽÍVÁNÍ KONOPÍ V ČESKÉ REPUBLICE	5
1.4 VYUŽITÍ KONOPÍ	5
1.5 VÝHODY PĚSTOVÁNÍ KONOPÍ	8
1.5.1 Agronomické výhody pěstování konopí	8
1.5.2 Ekonomické a environmentální pěstování konopí	8
1.6 NÁROKY KONOPÍ NA PĚSTOVÁNÍ	9
2. ABIOTICKÉ STRESOVÉ FAKTORY	11
2.1 TEPLOTA VZDUCHU	11
2.1.1 Teplota vzduchu v ČR	11
2.1.2 Teplota jako abiotický faktor rostlin	12
2.1.3 Vysoké teploty	12
2.1.4 Nízké teploty	13
2.1.5 Teploty pod bodem mrazu	13
2.1.6 Vliv teplot na pěstování konopí	13
2.2 SVĚTLO	14
2.2.1 Světlo v České republice	14
2.2.2 Světlo jako abiotický faktor rostlin	14
2.2.3 Vliv světla na pěstování konopí	15
2.3 SUCHO	15
2.3.1 Zemědělské sucho	16
2.3.2 Hydrologické sucho	16
2.3.3 Meteorologické sucho	17
2.3.4 Socioekonomické sucho	17
2.3.5 Sucho v České republice	17

2.3.6 Sucho jako abiotický faktor rostlin	18
2.3.7 Vliv sucha na pěstování konopí.....	18
3. IN VITRO KULTIVACE ROSTLIN.....	20
4. MATERIÁL A METODIKA	21
4.1 EXPERIMENTÁLNÍ MATERIÁL.....	21
4.2 PŘÍSTROJE A POMŮCKY	22
4.2.1 Přístroje	22
4.2.2 Pomůcky.....	22
4.3 METODY	23
4.3.1 Vytvoření živných médií	23
4.3.2 Založení in vitro rostlinných kultur.....	23
4.3.3 Namnožení rostlinného materiálu v in vitro podmínkách	24
4.3.4 Založení pozorování s osmoticky aktivními látkami simulující sucho.....	25
4.3.5 Vyhodnocení výsledků.....	26
5. VÝSLEDKY	31
5.1. RELATIVNÍ OBSAH VODY V PLETIVECH.....	31
5.2 DÉLKA PŘÍRŮSTKŮ PRÝTŮ	34
6. DISKUZE	38
7. ZÁVĚR	40
8. LITERATURA.....	41

Seznam tabulek

TABULKA Č.1	ŽIVNÁ MÉDIA.....	21
TABULKA Č.2	SLOŽENÍ ŽIVNÝCH MÉDIÍ S OSMOTICKY AKTIVNÍMI LÁTKAMI.....	25
TABULKA Č.3	RELATIVNÍ OBSAH VODY V PLETIVECH V GRAMECH A V %, POZOROVÁNÍ 1	27
TABULKA Č.4	RELATIVNÍ OBSAH VODY V PLETIVECH V GRAMECH A V %, POZOROVÁNÍ 2	28
TABULKA Č.5	PRŮMĚR PŘÍRŮSTKŮ PRÝTŮ, MĚŘENÝ V MM	29

Seznam obrázků

GRAF Č.1.	RELATIVNÍ OBSAH VODY V PLETIVECH (G) U OBOU OSMOTIK A OBOU POZOROVÁNÍ	32
GRAF Č.2.	PRŮMĚRNÉ PŘÍRŮSTKY PRÝTŮ U MAN, MĚŘENÉ V MM.	35
GRAF Č.3.	PRŮMĚRNÉ PŘÍRŮSTKY PRÝTŮ U PEG, MĚŘENÉ V MM.....	35
OBRÁZEK Č.1	MĚŘENÍ DÉLKY PŘÍRŮSTKŮ JEDNOTLIVÝCH PRÝTŮ U KONCENTRACE PEG I. (VLEVO) A U KONTROLNÍHO VZORKU (VPRAVO).....	30
OBRÁZEK Č.2	ODUMÍRAJÍCÍ ROSTLINY NA ŽIVNÉM MÉDIU S KONCENTRACÍ MAN IV., 3. TÝDEN RŮSTU.	33
OBRÁZEK Č.3	VITRIFIKOVANÉ, ODUMÍRAJÍCÍ A KVETOUcí ROSTLINY NA ŽIVNÉM MÉDIU S KONCENTRACÍ, PEG IV., 3. TÝDEN RŮSTU.....	33
OBRÁZEK Č.4	SROVNÁNÍ RŮSTU ROSTLIN NA NEJNIŽŠÍ KONCENTRACI MAN I. (VLEVO) A NA NEJvyšší KONCENTRACI MAN IV. (VPRAVO), 3. TÝDEN RŮSTU. ROZDÍL JE PATRNÝ..	36
OBRÁZEK Č.5	SROVNÁNÍ RŮSTU ROSTLIN NA NEJNIŽŠÍ KONCENTRACI PEG I. (VLEVO) A NA NEJvyšší KONCENTRACI PEG IV. (VPRAVO), 3. TÝDEN RŮSTU. ROZDÍL JE NEPATRNÝ.....	37

Úvod

Klimatická situace v České republice i ve světě se neustále mění a dochází ke globálnímu nárůstu teploty, s čímž jde ruku v ruce také nedostatek vody v krajině. Jelikož takto rychlé změny klimatu a s tím spojené snižování vody v krajině již prakticky nelze zastavit, člověk se tomuto trendu musí neustále přizpůsobovat. Jelikož vodní deficit je nejvýznamnějším faktorem, který ovlivňuje růst a produkci polních plodin, je nezbytné se této problematice věnovat. Jednou z reakcí člověka na sucho v krajině může být šlechtění nových odrůd ekologicky využitelnějších, víceúčelových rostlin, odolnějších vůči abiotickým faktorům, především tedy vůči vodnímu deficitu. Jednou z takových plodin je konopí seté, které má v dnešní době velký potenciál pro pěstování a využití ve spoustě oborech lidské činnosti. Nejen tento fakt z něj dělá doslova rostlinu budoucnosti, které by se měl člověk i nadále věnovat a pokoušet se prohlubovat své vědomosti a techniky v oboru výzkumu a šlechtění této byliny.

Snaha o šlechtění nových genotypů (odrůd) rostlin je motivována nejen změnou klimatu, ale také snahou získat rostliny s vhodnějšími vlastnostmi pro konkrétní pole působnosti, lépe přizpůsobené pro specifické podmínky pěstování s menšími vstupními nároky. Jelikož pozorování rostlin v polních podmínkách je proces zdlouhavý, ovlivňovaný řadou vnějších faktorů, vhodnější metodou je technika in vitro kultivace rostlin, která byla použita také v této práci.

Cíle práce

Cílem této práce bylo

1. Vypracování rešerše na téma bakalářské práce
2. Založení počátečních in vitro kultur *Cannabis sativa* L. vysetím sterilního osiva
3. Multiplikace in vitro explantátů
4. In vitro navození osmotického stresu simulující sucho
5. Porovnání vlivu dvou osmoticky aktivních látek manitolu a polyethylenglykolu na rostliny *Cannabis sativa* L.

1. *Cannabis sativa* L.

Tato rostlina doprovází člověka již od pradávna. Doklady o užívání konopných drog nalezneme už v období vzniku prvních starověkých civilizací. Nepřímé důkazy nás ovšem odkazují na éru před vznikem písma, kdy konopí sloužilo k vyvolání změněných stavů vědomí a k léčebným účelům (Miovský 2008).

V některých částech Eurasie hrálo konopí dokonce jednu z nejvýznamnějších rolí formující historii na mnoha úrovních. Lidé začali zpracovávat konopí již před více než tisíci lety, kdy konopné vlákno, použité k výrobě lan, bylo rozhodujícím materiálem při ovládnutí koní, dobytka i při plavbě na lodích. Konopí je také významným zdrojem energie a kvalitní potraviny nejen pro člověka (Clarke a Merlin 2016). Jedná se tedy bezpochyby o rostlinu, které bychom měli věnovat pozornost i do budoucna.

1.1 Taxonomie

Rod *Cannabis* patří do relativně malé čeledi Cannabaceae, která zahrnuje 10 rodů a cca 117 druhů (Zhang et al. 2018). Nalezneme zde rostliny rozšířené v tropických, subtropických a mírných oblastech světa, a také několik ekonomicky i kulturně významných druhů rostlin. Mezi dvě nejvýznamnější rostliny této čeledi patří především konopí seté a chmel otáčivý (Fu et al. 2022).

První taxonomický popis *Cannabis sativa* L. provedl Carl Linné roku 1737, a to v podhůří Himalájí. O pouhých 48 let později, roku 1785, ve východní Indii popsal francouzský botanik Jean Baptiste de Lamarck další druh konopí, který nazval *Cannabis Indica* L. Třetí a poslední známý druh konopí byl objeven v jihovýchodním Rusku roku 1924. Popsal jej botanik D. E. Janischewsky jako *Cannabis rudealis* (Miovský 2008).

Dnes je taxonomie konopí velmi složitá a není zcela jasné, jak to s rozdělením konopí do druhů, případně poddruhů opravdu je, neboť vysoká adaptabilita a častá hybridizace těchto bylin zajišťuje jejich výraznou variabilitu.

1.2 Biologická a morfologická charakterizace

Konopí je jednoletá, dvoudomá bylina. Dlouholetá selekce ve šlechtitelské praxi ovšem vedla ke vzniku jednodomých odrůd, které nyní v současném produkčním zemědělství převládají. Dvoudomé rostliny vykazují sexuální dimorfismus, patrný především v generativních fázích vývoje.

Rostliny samčího pohlaví jsou vyšší, méně větvené, tvoří řidší olistění s delšími internodiemi a celkově působí méně robustním habitem, než rostliny samičí. Před zakvétáním je tento trend nejlépe znatelný (Miovský 2008).

Samčí květenství vyrůstá v úžlabí listů, v latách. Tvoří pětičetné kališní lístky žluto zelené barvy a pět tyčinek. Prašníky v době zralosti uvolňují velké množství pylu, které je větrem rozptylováno i desítky kilometrů (Moliteri et al. 2004). Počátek kvetení je o několik dní v předstihu, před květem samičích rostlin. Samčí rostliny umírají po odkvětu, narozdíl od samičích, které odumírají až po dozrání semen (Petit et al. 2020).

Samičí rostliny působí daleko robustnějším dojmem, jejich internodia jsou kratší, listy mohou být tmavší a lodyha široce větvená. Vytváří hroznovitá květenství vyvíjející se v horní části rostliny nebo v úžlabí listů. Květy s dvoupouzdrým semeníkem, jedním vajíčkem a dvěma bliznami nitkovitého tvaru jsou obklopeny zelenými listeny se žláznatými trichomy. (Moliteri et al. 2004).

Kořen této byliny je kolmý, kulovitý, s vlásečnicovými kořínky, které jsou pro výživu rostliny nepostradatelné. Délka a bohatost kořene je závislá především na množství živin a vody v půdě, způsobu zasetí semen či na pohlaví, pokud se jedná o dvoudomou odrůdu. Kořen tedy může sahát do hloubky 40 cm až 2 a více metrů (Miovský 2008).

Stonek je v závislosti na typu konopí 4 až 6 hraná, přímá lodyha. V dolní části zůstává kulatý, směrem k vrcholu rostliny hrany zesilují. Na povrchu stonku můžeme pozorovat vertikální rýhování. V ideálních podmínkách může lodyha dosahovat až 6 metrů. V období vegetačního růstu je stonek zelený a dužnatý, s následující vegetační zralostí rostliny stonek od báze dřevnatí a barva se mění na citronově zelenou. V jeho středu se tvoří dutina (Miovský 2008).

Listy jsou dlanité s 3 až 13 laloky, které mají pilovité okraje. Tvar jednotlivých laloků je kopinatý, přičemž nejnižší pár laloků je většinou mnohem menší, než ostatní a směřuje dozadu (Chandra et al. 2017).

Po opylení zraje semeno 30-40 dní. Plodem je jednosemenná nažka vejčitého tvaru. Obklopena je malým množstvím endospermu s uvnitř podkovovitě stočeným klíčkem. Velikost a barva semen se liší, je závislá na typu konopí. Délka většinou nepřesahuje 5 mm, šířka 2-4 mm. Barva se pohybuje od šedozelené, přes tmavohnědou až po černou, vždy s jemným mramorováním. HTS (hmotnost tisíce semen) je 8-26 g (Miovský 2008).

1.3 Historie využívání konopí v České republice

Pěstování konopí setého má v ČR dlouholetou tradici. Největší rozmach pěstování této plodiny byl zaznamenán od 18. století, nejčastěji pro textilní využití. V ČR během poloviny 19. století dokonce fungovaly dvě velké přádelny konopí. Ovšem následně, zvláště v období hospodářské krize (1930), začaly plochy osetých hektarů klesat. Zpracovatelský průmysl strádal, jelikož odbyt a cenu výpěstků určovaly levnější a snáze zpracovatelné plodiny ze zahraničí (juta, sisal, bavlna) (Konopa 2007). Rostoucí zájem veřejnosti o rostlinu jako drogu začal vrhat na konopí špatný obraz, což vedlo k postupnému ukončení pěstování konopí ve většině zemí světa (Small et al. 2002). V roce 1955 už se v ČR konopí téměř nepěstovalo. K postupnému navrácení se k pěstování a šlechtění nových odrůd konopí docházelo od 90. let 20. století (Wirtshafter 2004). Roku 2001 bylo pěstování technického konopí povoleno ve všech členských státech Evropské unie (eur-lex.europa.eu), což vedlo k vzestupnému vývoji ve využívání této plodiny.

1.4 Využití konopí

Obrovský ekologický potenciál a rozmanitost surovin, které může rostlina dodávat, činí průmyslové konopí zajímavým pro zemědělství, lékařství, potravinářství, textilní průmysl, stavebnictví a další průmyslová odvětví (Zimniewska 2022). Nejčastěji se ovšem technické konopí pěstuje pro využití semen a konopného pazdeří, tedy jako dvouúčelová plodina (Kaczorová et al. 2020). Rostliny pěstované pro konopné pazdeří jsou nejčastěji sklizeny

70-90 dní po setí, zatímco konopí, seté pro semeno či bioenergii, může být sklízeno daleko později (Fike 2016). Každopádně, relativně krátká doba pěstování přináší, v porovnání s jinými plodinami, poměrně vysoké výnosy. Sklidit můžeme až 25 tun nadzemní sušiny na 1 hektar (Struik et al. 2000).

Vlákno z technického konopí je jedno z nejpevnějších a nejtužších přírodních vláken, a proto má velký potenciál pro různá použití, např. v tvorbě kompozitních materiálů. Kompozity obsahující konopná vlákna se začaly uplatňovat v automobilovém průmyslu již během 90. let 20. století (Pickering et al. 2007). Zájem o konopná vlákna vzrostl také díky dobrým mechanickým a izolačním vlastnostem. Oproti vláknům skelné či ropné báze, působí nižšími negativními vlivy na životní prostředí. Jsou proto dobrými kandidáty pro náhradu syntetických vláken v termoplastické výztuži (Bourmaud et al. 2011).

Konopí je také jedním z nejstarších zdrojů textilního vlákna (Small et al. 2002). Tradiční způsoby zpracování spočívají ve specializovaném máčení, spřádání a tkaní vlákna, a jsou velmi nákladné. Kvůli tomu jsou tyto materiály z velké části omezené na trhy speciálních tkanin a jemných textilií (Fike 2016). Dnes se konopí vyskytuje v oděvním trhu jen málo. Konkuruje mu levnější a zpracovatelsky jednodušší materiály. Hodnota a žádané vlastnosti konopných vláken však spočívají především v jejich délce, síle a odolnosti. Díky těmto vlastnostem je konopí hojně využíváno pro tvorbu nejen lan, šňůr, sítí a plachtovin. Dokonce anglický výraz „canvas“, neboli plátno, je odvozen ze slova cannabis (Small et al. 2002). Vlastnosti konopných vláken jsou úzce spjaty s odrůdou konopí, podmínkami pěstování a metodou získávání vláken (Zimniewska 2022).

Semena konopí se již po staletí používají nejen k výživě lidí a zvířat. V Čínské medicíně jsou považována za tradiční potravinu i jako lék. Mají vynikající profil esenciálních mastných kyselin a bílkovin (Callaway 2004). Celé konopné semeno obsahuje 25 % bílkovin, loupané semeno pak 33 % a výlisky 34 % bílkovin. Všechny konopné suroviny jsou vynikajícím zdrojem stravitelného proteinu (Kaczorová, D., et al. 2020). Asi největší využití mají konopná semena ve výrobě za studena lisovaného konopného oleje, který se používá jak v potravinářství, tak v kosmetice (Leson 2006). Olej zlepšuje kvalitu pokožky i sliznic a při vnitřním užívání má mnohé benefity na zdraví celého organismu. Dokonce napomáhá v boji proti lupénce či atopickému ekzému (Callaway 2004). Na trhu dnes můžeme nalézt také konopná semena loupaná, pražená či jinak upravená. Těší se velké oblibě zákazníků (Leson 2006). Semena

konopí a jeho deriváty jsou také velmi užitečné ve výživě hospodářských zvířat. Zlepšují jak kondici zvířat samotných, tak i kvalitu následných produktů živočišného původu (Callaway 2004).

Vzhledem k vysokému obsahu celulózy (60-77 % hmotn.) a nízkému obsahu ligninu (4-8 % hmotn.) ve vláknině existuje také potenciál pro výrobu biopaliv z konopí (Wimalasiri et al. 2021). Ve srovnání s plodinami na bázi škrobu, je chemické složení konopí, především tedy obsah celulózy, ideální pro výrobu bioetanolu, bioplynu a dalších bioproduktů (Deeley 2002). Bioetanol je vysoce perspektivní alternativou benzínu. V současnosti se vyrábí převážně z plodin určených pro potravinářskou produkci. Navzdory svému velkému potenciálu jako výchozí suroviny, jsou přístupy k biologické přeměně konopí na bioprodukty stále v začátcích (Ji et al. 2021).

Další velký potenciál má konopí v oblasti zdravotnictví. Užívání této byliny s cílem léčby bylo běžné v Asii a Indii již v dobách 700-500 let před Kristem (Touw 1981). Není divu, že se postupem času dostalo konopí také do povědomí západní společnosti. Zde se ovšem těšilo zájmu spíše rekreačních uživatelů a pro své psychoaktivní účinky, což vedlo nejdříve ke schválení zákona o dani z marihuany, následně k úplnému zákazu užívání konopí a jeho odstranění z amerických lékopisů. Konopí ovšem neupadlo v zapomnění. Začíná nová éra ve využívání této rostliny jakožto léčiva (Zuardí 2006).

Dne 1.1.2022 nabyla v České republice účinnosti novela zákona č. 167/1998 Sb. o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, která umožňuje užívání a prodej produktů z konopí, které obsahují nejvýše 1 % látek ze skupiny tetrahydrokanabinolů a splňují podmínku bezpečnosti podle zákona o obecné bezpečnosti (Česko 2021). V terapeutické praxi jsou podstatné dvě bioaktivní složky, které konopí produkuje. Jde o tetrahydrokanabinol (THC) a kanabidiol (CBD) (White 2019). Největší koncentraci těchto látek najdeme ve žláznatých trichomech samičích rostlin. Působí na mnohé disfunkce lidského organismu. Dokáží například uvolnit křeče, jejich účinek je protizánětlivý a analgetický. V České republice se konopí pro léčebné použití nejčastěji využívá jako podpurná či doplňková léčba ke zmírnění příznaků závažných onemocnění (Kaczorová et al. 2020).

Destigmatizace konopí jako léčivé a průmyslově mnohostranně využitelné rostliny by prospěla nejen pacientům, pro které je momentálně dostupné jen v omezené míře, ale

i medicínskému výzkumu, udržitelnému zemědělství či ekologizaci výroby textilií, biopolymerů a stavebních materiálů (Kaczorová et al. 2020).

1.5 Výhody pěstování konopí

1.5.1 Agronomické výhody pěstování konopí

Pěstování technického konopí není náročné. Rostliny se pěstují na husto, díky čemuž se minimalizuje poléhavost a zároveň přetrvává vysoká výnosnost (Struik et al. 2000). Rostliny se osvědčily jako dobrá předplodina, jelikož příznivě ovlivňují stav půdy. Jejich hluboký kořenový systém omezuje přítomnost škodlivých hub a hlístic. Dále konopí disponuje hustým olistěním, díky kterému je povrch půdy zastíněný, a růst plevelů je proto ve velké míře potlačen (Piotrowski a Carus 2023). Použití jakýchkoli biocidních látek při pěstování konopí tedy není třeba. Kromě potlačení růstu plevelů totiž rostliny díky vylučování určitých sekundárních metabolitů odpuzují celou řadu fytofágního hmyzu (Benelli et al. 2018). Při zaorávání biomasy dokáže konopí navýšit množství organické hmoty v půdě a zlepšit tak její úrodnost. Půda je poté v dobré kondici, připravena pro růst dalších plodin (Pudeřko et al. 2021). Další užitečnou funkci plní rostliny konopí při rekultivacích půdy i celé krajiny. Dokáží totiž z půdy během svého růstu extrahovat toxické látky a hromadit je v nadzemních částech rostliny, čímž dekontaminují půdu od těžkých kovů, především olova, niklu, kadmia, zinku a chromu. Tento proces se nazývá fytoremediace (Linger et al. 2002). Jelikož má konopí krátký životní cyklus, vysokou odolnost vůči těžkým kovům a dlouhý kořenový systém, je pro tento proces ideální rostlinou (Ahmad et al. 2016). Díky svému kořenovému systému také zabraňuje erozi půdy a zvyšuje schopnost zadržovat vodu v půdě (Rehman et al. 2021).

1.5.2 Ekonomické a environmentální pěstování konopí

Celosvětová poptávka po konopných produktech vzrůstá, takže se konopí rychle stává významnou součástí zemědělské ekonomiky i v těch částech světa, kde se doposud nepěstovalo (Wimalasiri et al. 2021). Pěstování technického konopí pro vlákno je, narozdíl od jiných, běžně

pěstovaných textilních plodin, udržitelnější a ekonomicky výhodnější. Nevyžaduje tak vysoké energetické nároky při zemědělské činnosti jako bavlna, jelikož není třeba hnojiv, herbicidů, ani zavlažovacích systémů. Pro výrobu 1 kg konečného vlákna konopí je zapotřebí až třikrát méně vody než pro výrobu stejného množství bavlny. Navíc, v porovnání s bavlnou, má konopí schopnost mít výrazně vyšší výnosy vlákna na hektar (Duque Schumacher et al. 2020). Technické konopí má díky svým všestranným aplikacím velký tržní potenciál. Ačkoli je pěstované především pro produkci semene a vlákna, je to také surovina vhodná pro výrobu obnovitelné energie. Využit se dají např. zbytky po odstranění vláken, nazývané konopné pazdeří, které je považováno za levný zdroj celulózy. Z lignocelulózové biomasy lze vyrábět etanol, který může poskytnout vyšší čistý energetický poměr a nižší emise skleníkových plynů než etanol z kukuřice nebo cukrové třtiny. Rostlinu jde využít víceúčelově, což znamená, že semena můžeme sklídit pro potravu a zbytek biomasy pro energetické účely (Ji et al. 2021). Tato udržitelná surovina by mohla jakékoli zemi pomoci snížit její účty za dovoz energie a zajistit udržitelné dodávky energie (Rehman et al. 2021). Z ekonomického i environmentálního hlediska se technické konopí osvědčilo jako jedna z nejlepších energeticky pěstovaných plodin (Hanegraaf et al. 1998).

1.6 Nároky konopí na pěstování

Konopí lze pěstovat v různých částech světa za různých agroekologických podmínek (Wimalasiri et al. 2021). Nejlépe prosperuje především v teplejších oblastech, při teplotách 13-22 °C na dobře provzdušněných, méně kyselých půdách s dostatkem živin (Rehman et al. 2021). Je velmi citlivé na špatnou strukturu půdy a nedostatek nebo přebytek vody v raných fázích růstu (Struik et al. 2000).

Zařazení konopí do osevního postupu není náročné. Je vhodné jako předplodina např. pro pšenici, ale lze jej na jednom pozemku pěstovat jakožto monokulturu i několik let za sebou (Adesina et al. 2020), což ovšem není vzhledem k potenciálnímu riziku šíření chorob a škůdců či jednostrannému odčerpávání živin vhodné.

Konopí se seje dle klimatických podmínek v průběhu jara, asi 3-4 cm hluboko. Hloubka setí je poměrně důležitým faktorem, jelikož dokáže ovlivnit rovnoměrnost vzcházení rostlin (Rehman et al. 2021). Při výsevu je vhodné aplikovat na pole dusík, který rostliny využijí

především v období prvního měsíce růstu. Za 8-12 dní po vysetí by mělo konopí vzejít, při ideální teplotě 8-10 °C (Adesina et al. 2020). Vegetační doba a čas sklizně závisí na pěstované odrůdě. Nejčastěji se sklízí od poloviny srpna do poloviny září.

2. Abiotické stresové faktory

Abiotické stresové faktory prostředí jsou vlivy působení chemických nebo fyzikálních složek prostředí na organismy. Patří zde celá řada činitelů, jako např. extrémní teploty, ozáření, nedostatek či nadbytek vody, salinita, chemická toxicita a další. Co se týče rostlinných společenstev, jsou tyto stresory jedním z nejvýznamnějších činitelů ovlivňující růst a vývoj rostlin, jelikož často působí současně a způsobují změny dočasného i dlouhodobého měřítka. Dokáží rostlinám navodit stres, jehož odpovědí je soubor obranných mechanismů rostlin (Pavlová 2005).

Abiotické stresové faktory jsou hlavní příčinou celosvětových ztrát úrody. Snižují průměrné výnosy hlavních plodin až o více než 50 %. Zabývání se těmito faktory a jejich vlivy na rostliny je tedy velmi důležité (Wang et al. 2004).

Následující kapitoly jsou věnovány základním abiotickým faktorům působícím na rostliny a jejich popisu.

2.1 Teplota vzduchu

Teplota vzduchu je faktor prostředí, který významně ovlivňuje životní procesy všech organismů na Zemi. (Žróbek-Sokolnik 2012). Ovlivňuje jejich růst, vývoj i rozmnožování. Optimální teplota se může v závislosti na daném organismu lišit. Příliš vysoké nebo naopak příliš nízké teploty prostředí mohou být pro mnoho organismů smrtelné. Teplota také ovlivňuje další abiotické faktory jako dostupnost vody a s tím spojené sucho.

2.1.1 Teplota vzduchu v ČR

Česká republika leží v mírném podnebném pásu, pro který je typické střídání čtyř ročních období s teplým, suchým létem a poměrně chladnou zimou (Maitah, Malec 2021). Lze ji rozdělit do tří klimatických oblastí, a to teplá, mírně teplá a chladná. V horských oblastech je průměrná teplota nižší, a naopak ve sníženinách vyšší. (Vondráková et al. 2013). V průběhu roku jsou nejnižší teploty měřeny v lednu a nejvyšší v červenci (Český hydrometeorologický

ústav ČR 2021). Na území ČR se přibližně od roku 1980 projevuje systematické zvyšování teploty vzduchu (Kašpárek a Kožín 2022), s čímž souvisí i zvyšující se sucho v krajině.

2.1.2 Teplota jako abiotický faktor rostlin

Teploty vzduchu na Zemi mají veliký rozsah a rostliny se dokázaly velmi dobře přizpůsobit jak sezónní změně teplot, tak i změnám během dne. Z mírných oblastí migrovaly rostliny na sever i na jih od rovníku a dnes dovedou odolávat jak mrazům, tak i vysokým teplotám. V každém případě, cestu k této evoluci doprovázel stres, v jehož reakci rostliny vykazují četné adaptivní změny (Žróbek-Sokolnik 2012). Za optimální teplotu pro růst konkrétní rostliny je považována teplota prostředí, při níž je vegetativní růst rostliny nejrychlejší. Obecně platí, že semena a dormantní orgány jsou k extrémním teplotám výrazně rezistentnější než klíčící rostliny nebo listy (Pavlová 2005).

2.1.3 Vysoké teploty

V důsledku zesilování lidských aktivit dochází ke zvyšování emisí skleníkových plynů a efektu globálního oteplování. Vysoké hodnoty emisí skleníkových plynů způsobují zvyšování průměrné hodnoty atmosférické teploty, což představuje hrozbu pro životní prostředí, (Kweku et al.2018) a tedy i změny v růstu a vývoji rostlin.

V přirozených podmínkách je stres způsobený extrémně vysokými teplotami často spojen se stresem z nedostatku vody a adaptace k extrémním teplotám má mnoho společných rysů s adaptací na sucho. Ke snižování teploty uvnitř rostlin totiž dochází díky transpiraci, k čemuž ovšem potřebují dostatečné množství vody. Během šoku způsobeného vysokou teplotou klesá syntéza řady proteinů, ovšem výrazně stoupá syntéza specifických tzv. HS – proteinů (z anglického heat shock proteins) (Pavlová 2005). Fyziologické procesy rostlin výrazně reagují na vysoké teploty, což například u hospodářských plodin významně ovlivňuje výnosy. K zajištění udržitelného zemědělství a k předpovídání dopadů globálního oteplování na výnosy plodin je nezbytné vyvíjet nové, odolnější kultivary a zdokonalovat poznatky o reakcích rostlin na vysoké teploty (Paulsen 2015).

2.1.4 Nízké teploty

V případě faktoru nízkých teplot se bavíme o teplotním rozmezí 20 °C až 0 °C (Žróbek-Sokolnik 2012). Pokud teplota vzduchu klesne níž, než jsou optimální podmínky pro danou rostlinu, růst rostliny se sníží či zastaví. Nízké teploty nad bodem mrazu zvyšují propustnost membrán a ovlivňují tak membránový potenciál. Při přetrvávání nízkých teplot mohou být buňky rostlin poškozeny nevratně, časté je také odbarvení listů vlivem poškození membrán chloroplastů (Pavlová 2005). Rostliny, které rostou v chladnějších oblastech jsou na tyto podmínky adaptované a chladné období je většinou, kromě zpomalení celkového metabolismu, nijak neoslabí. Naopak pro rostliny citlivé k chladu, mohou způsobit tyto podmínky poruchy klíčení, kvetení, produkci plodů a jiné nevratné změny (Žróbek-Sokolnik 2012).

2.1.5 Teploty pod bodem mrazu

Mráz obecně vyvolává tvorbu ledu v mezibuněčných prostorech nebo ve vakuolách rostlin, což způsobí dehydrataci vnitrobuněčné tekutiny (cytosolu), případně i mechanické poškození rostlinných buněk. Při podzimním snížení teploty nad bod mrazu začnou rostliny produkovat specifické látky, které omezují tvorbu krystalů ledu ve vakuolách a nadcházející nižší teploty v zimním období pak lépe tolerují (Pavlová 2005). Pro rostliny rostoucí v mírném podnebném pásu tedy není mráz v zimě typickým stresorem, ovšem pokud mrazivé teploty zasáhnou prudce na jaře nebo v létě, stres se u těchto rostlin již projeví (Žróbek-Sokolnik 2012).

2.1.6 Vliv teplot na pěstování konopí

Rostliny konopí dobře prosperují v podmínkách mírného klimatu, bujného růstu dosahují při teplotách 13 až 22 °C. Po vytvoření třetího páru listů dokáže konopí přežít i teploty -0,5 °C po dobu 4-5 dnů (Rehman et al. 2021). Teploty nad 30 °C snižují kvalitu oleje konopných zrn. Teplota vzduchu 40 °C je považována za teplotu, při které již růst konopí

ustává. Vysoké teploty společně s nízkými srážkami způsobují zpomalení růstu a tím i pokles a ztrátu kvality výnosu (Hammami et al. 2022).

2.2 Světlo

Zdrojem přirozeného světla na naší planetě je Slunce a sluneční svit. Za dobu trvání slunečního svitu je považován časový interval mezi východem a západem Slunce, během kterého není sluneční kotouč zakryt oblačností nebo jinými překážkami (Český hydrometeorologický ústav ČR 2021).

2.2.1 Světlo v České republice

V roce 2021 dosáhla průměrná doba trvání slunečního svitu na území ČR hodnoty 1663,5 h, což je téměř 100 % ročního normálu v letech 1991-2020. Průměrná roční doba trvání slunečního svitu na území ČR byla tedy v roce 2021 o více než 100 h kratší než v předchozím roce. Obecně nejdelší doba trvání slunečního svitu bývá v měsíci červnu (Český hydrometeorologický ústav ČR 2021).

2.2.2 Světlo jako abiotický faktor rostlin

Rostliny jsou fotoautotrofní organismy, což znamená, že pro svůj růst vyžadují energii slunečního záření, kterou při fotosyntéze transformují v energii chemických vazeb. Mají vyvinuty fotosenzory, jimiž získávají informace o světelných poměrech na stanovišti. Díky těmto sensorům mohou rostliny vnímat světelné spektrum a fotoperiodu, neboli počet hodin světla během 24h. Poměry světelného spektra se během dne i roku mění, na což rostliny aktivně a koordinovaně reagují např. utvářením habitu, změnou metabolismu či posunem orgánů a organel (Pavlová 2005). Různé druhy rostlin jsou adaptovány na různé množství dopadajícího záření. Všeobecně, stres nevyvolává vysoké osvětlení jako takové, ale množství záření, které rostlina absorbuje nad rámec toho, co využije při fotosyntéze (Demmig-Adams a Adams 1992). Světломilným rostlinám bude navozen stres, pokud ozáření klesne pod hranici jejich

adaptačního rozsahu a dojde k vyčerpání rezerv. Naopak, stínomilné rostliny budou ve stresu, pokud ozáření překročí jejich schopnost adaptace na světlo (Lichtenthaler 1996).

2.2.3 Vliv světla na pěstování konopí

Kvalita, intenzita, zdroj světla a fotoperioda hrají rozhodující roli ve výnosu a kvalitě konopí (Backer et al. 2019). Fotoperioda má u konopí významný vliv především na začátek a celkovou dobu kvetení. V závislosti na kultivaru je kvetení obecně vyvoláno osvětlením trvajícím kratší dobu, než 15 hodin, což má za následek dlouhé generační období. Při zkracování doby osvětlení se zkracuje i doba květu a kvetení přichází dříve. Rostliny jsou při nedostatečné délce osvětlení (8h světlo, 16h tma) také mnohem slabší a mají celkově nižší výnosy, v porovnání s rostlinami konopí pěstovanými za běžné fotoperiody, např. na poli. Pokud je naopak fotoperioda příliš dlouhá (16h světlo, 8h tma) nebo pokud jsou rostliny trvale osvětlené, kvetení přichází později a rostliny mají celkově menší počet květů (Schilling et al. 2023).

2.3 Sucho

Sucho je považováno za ekologickou katastrofu, která přímo souvisí s mnoha obory lidské činnosti. Je velmi obtížné pojem sucho definovat, jelikož je geograficky a časově velmi rozložené (Heim 2002).

Sucho je jedním z mnoha důsledků klimatické změny. Hlavní příčinou změny klimatu a výrazného oteplování planety je zvýšená koncentrace skleníkových plynů, mezi které patří především oxid uhličitý, metan a vodní pára. Tyto plyny mají schopnost pohlcovat zemské záření a tím udržovat nezbytnou energii, čímž zabezpečují nejen teplotu vhodnou pro život, ale ovlivňují i pohyb vzduchu a fázové přeměny vody (Žalud et al. 2019).

Riziko a intenzita sucha stoupá s rostoucími teplotami a klesajícími srážkami. Nejvýraznější nárůst rizika sucha je tedy na většině evropského území v letních měsících (Brázdil a Trnka 2015).

V závislosti na časovém měřítku a dopadech bývá sucho obvykle členěno do čtyř kategorií na sucho zemědělské, hydrologické, meteorologické a socioekonomické (Heim 2002).

2.3.1 Zemědělské sucho

Zemědělské sucho se projevuje nedostatkem vody pro růst rostlin a má trvání v měřítku týdnů až 6–9 měsíců. Suchými epizodami v tomto časovém rozsahu jsou ovlivňovány i lesní porosty (Brázdil a Trnka 2015). Důsledkem sucha se snižují výnosy plodin, průtoky řek ovlivňující hladinu podzemních vod a hladiny retenčních nádrží, potenciálně využívaných k závlaze rostlin, se také snižují (Žalud et al. 2019). Zemědělské sucho také přispívá k degradaci půdy, zasolení, erozi až desertifikaci. Jelikož dokáže obdělávaná půda pojmout obrovské množství vody, má velký význam pro boj s jejím nedostatkem v krajině (Brázdil a Trnka 2015).

2.3.2 Hydrologické sucho

Za hydrologické sucho považujeme podprůměrné množství vody ve vodních tocích, nádržích nebo zvodnělých vrstvách. Nedostatek vody je zjišťován na vodoměrných stanicích, terénním měřením v potocích a odečtem ve vrtech. Aktuální hodnoty jsou porovnávány s dlouhodobým průměrem (Žalud et al. 2019). Dopady tohoto typu sucha evidujeme až po delším časovém intervalu a způsobují většinou dlouhodobé problémy s hospodařením s vodními zdroji. V rámci hydrologického sucha se zaměřujeme jak na sledování průtoků řek za stanovený čas, tak i na monitoring množství podzemní vody či rozložení srážek. Hydrologické sucho totiž většinou navazuje na meteorologické sucho (Brázdil a Trnka 2015) a velmi úzce souvisí i s geologickými poměry dané oblasti (Mishra a Singh 2010). Dopady hydrologického sucha lze zmenšovat výstavbou retenčních nádrží, udržováním mokřadů či přirozenou akumulací vody v půdě na místech s vhodným geologickým podložím (Žalud et al. 2019).

2.3.3 Meteorologické sucho

Meteorologické sucho je období s podprůměrným množstvím srážek, jehož příčinou jsou většinou další druhy sucha. Jeho dopady pozorujeme v různých odvětvích národní ekonomiky, především v zemědělství (Łabędzki a Bał 2015).

Lze ho indikovat na základě meteorologických měření a vyjadřuje se pouze v závislosti na množství srážek a délce trvání suché periody (Brázdil a Trnka 2015).

2.3.4 Socioekonomické sucho

Pokud se důsledky sucha začnou promítat do ekonomiky a jakmile začnou negativně ovlivňovat celou společnost, mluvíme o suchu socioekonomickém. Jedná se o důsledek ostatních druhů sucha, mající vliv na celou ekonomiku a fungování společnosti, jako např. turismus, život obyvatel, průmyslovou či energetickou produkci a jiné (Brázdil a Trnka 2015).

2.3.5 Sucho v České republice

Přirozená klimatická variabilita, antropogenní vlivy na klima a také charakter využití krajiny ovlivňovaly, ovlivňují a budou ovlivňovat výskyt a dopady epizod sucha na našem území. V České republice dochází k postupnému snižování disponibilní vody v půdě, a to především vlivem změny klimatických poměrů od dubna do června. Mezi nejvíce postižené oblasti zemědělským suchem patří okresy jižní Moravy a středních Čech (Brázdil a Trnka 2015). Protože je naše krajina na množství dešťových srážek zcela závislá, platí v České republice zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon) (Česko 2022) neboli tzv. plán pro sucho. Tento zákon vymezuje rámec monitoringu sucha, odpovědnosti kompetentních orgánů, přijímání opatření pro zvládnutí sucha i nedostatku vody i pro kontrolní mechanismy (Žalud et al. 2019).

Především od druhé poloviny 20. století se začal projevovat antropogenní vliv na množství vody v krajině a rychlosti jejího odtoku. Docházelo k regulaci říčních toků, melioraci zamokřených území či snižování rozlohy lužních lesů. Během posledních dvaceti let dochází k postupnému zvyšování citlivosti produkce potravin na výskyt sucha a roste riziko

lesních požárů. Do budoucna se bude muset česká krajina se stále zvyšující se intenzitou sucha vypořádat a přijímat opatření, která povedou jak k minimalizaci negativních dopadů suchých epizod, tak k přizpůsobení se těmto dopadům na krajinu i ekonomiku společnosti (Brázdil a Trnka 2015).

2.3.6 Sucho jako abiotický faktor rostlin

Voda je jeden ze základních komponentů, bez kterého se rostliny takřka neobejdou. Deficit vody v krajině může mít významný vliv na růst, vývoj a produkci rostlin a může ovlivnit také zdraví celého ekosystému.

Při nedostatku vody se snižuje napětí buněk a rostliny vadnou. Pro přežití déle trvajícího vodního deficitu si rostliny vyvinuly různé strategie, jako např. vytvoření efektivního kořenového systému, redukci listové plochy pro snížení transpirace či přečkání stresu ve formě semen. Pokud se ale jedná o náhlý nedostatek vody, rostliny zareagují snížením vodního potenciálu, snahou o vyšší příjem a zadržení vody, zavíráním průduchů a dalšími procesy uvnitř buněk, které napomáhají rostlinám přežít aktuální deficit vody (Pavlová 2005).

I v oblastech dobře zásobených vodou mohou při výskytu sucha klesnout výnosy zemědělských plodin až o více než 15% (Brázdil a Trnka 2015). Nasnadě je tedy snaha o šlechtění nových kultivarů zemědělských plodin odolnějších vůči suchu a přijímání efektivních adaptačních opatření na budoucí rizika sucha v naší krajině.

2.3.7 Vliv sucha na pěstování konopí

Sucho se považuje za abiotický stresor s největším dopadem na průmyslové plodiny, včetně konopí (Hammami et al. 2022). Vodní deficit může mít na růst a produkci konopí různé dopady. Vždy záleží na vícero faktorech, jako je genetika rostlin samotných, geologické podloží, klimatické podmínky aj. Obecně lze ale říct, že konopí dokáže přežít i při velmi malé dostupnosti půdní vláhy. Při náhlém nedostatku vody dojde k uzavření průduchů a vadnutí listů (Tang et al. 2018). Pokud vodní deficit přetrvává dlouhodoběji, dochází ke zpomalení až

zastavení růstu a celkovému snížení výnosu, ovšem na druhou stranu začnou rostliny produkovat plnější semena pro zvýšení reprodukční schopnosti (Gill et al. 2022).

3. In vitro kultivace rostlin

Kultivace rostlin v in vitro podmínkách neboli pěstování tkáňových kultur je metoda pěstování rostlin ve sterilních podmínkách, která má využití ve vědecké i komerční sféře. Jedná se o způsob pěstování rostlinného materiálu, na kterém spočívají takřka veškeré biotechnologické výzkumy. Díky in vitro kultivaci lze za krátký čas dosáhnout velkého množství zdravých, uniformních rostlin bez jakýchkoliv patogenů. Úspěšná mikropropagace, tedy vegetativní namnožení rostlin závisí na vícero faktorech, jako je složení živného média, podmínky pěstování, typ explantátu či genotyp dané rostliny.

Rostlinné orgány, tkáně nebo buňky jsou izolovány a vloženy na živné médium, obsahující látky vhodné pro jejich růst. Následně je rostlinný materiál uložen do sterilního prostředí a za příslušných podmínek produkuje rostlinné klony. Celý proces probíhá ve sterilním prostředí, aby nedošlo k zavlečení patogenů (Kumar a Reddy 2011).

4. Materiál a metodika

4.1 Experimentální materiál

Pro kultivaci rostlinného materiálu byla použita semena *cannabis sativa* L. genotypu USO 31, získané od firmy Agritec, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o, Šumperk. Semena se sela, následně pasážovala a rostla na tuhých agarových médiích, viz tabulka č. 1, v Erlenmeyerových baňkách. Do každé baňky bylo vyseto vždy 7 semen konopí. Jakožto osmoticky aktivní látky, simulující rostlinám deficit sucha, jsme použili manitol (Man) a polyethylenglycol (PEG). Obě látky byly přidány do živného média, vždy ve 4 stupních koncentrace, značené I.-IV. a 3 opakováních. Pro manitol se jednalo o koncentrace 9,1; 18,2; 45,5 a 91,1 g/l a v případě polyethylenglycolu byly koncentrace 10, 25, 35 a 50 g/l živného média. Pro každé opakování byl navíc kontrolní vzorek, který obsahoval pouze živné médium bez osmoticky aktivních látek. Celkově jsme tedy pro jedno pozorování měli 30 Erlenmeyerových baňek vždy se 4 rostlinami konopí genotypu USO 31.

Každé kultivační médium obsahovalo agar (Duchefa Farma B.V., Haarlem, Nizozemsko) v koncentraci 8 g/l, sacharózu (Duchefa Farma B.V., Haarlem, Nizozemsko) 30 g/l, kyselinu askorbovou 0,02g/l a specifické složení fytohormonů. U každého média bylo pH upraveno na 5,8 pomocí KOH.

TABULKA Č.1 ŽIVNÁ MÉDIA

Název živného média	Využití
CO	Naklíčení semen
Li	Izolace explantátů
MS-P	Multiplikace prýtů
ViVi6	Růst rostlin

4.2 Přístroje a pomůcky

4.2.1 Přístroje

Pro tvorbu živných médií a vyhodnocení výsledků byly využívány tyto přístroje:

- Box laminární Steril Helios 48
- Sterilizátor parní WiseClave
- Autokláv SYSTEC D-23
- Míchačka magnetická Heidolph MR Hei-standard
- Váha Kern KB600-2
- pH metr stolní FE20 – Kit Mettler Toledo
- Mikrovlnná trouba Hitachi MSO23
- Sušárna MEMMERT UF160
- Třepačka

4.2.2 Pomůcky

Pro růst rostlin, manipulaci s experimentálním materiálem a vyhodnocení sledování bylo třeba těchto pomůcek:

- Erlenmeyerovy baňky Fisherbrand, 100 ml (Erlen. baňky)
- Pinzeta
- Skalpel
- Lihový kahan
- Filtrační papír
- Kádinky
- Odměrný válec Simax Kavalier Stabil 500 ml
- Petriho misky
- Čtverce alobalové fólie

- Parafilm Sigma-Aldrich
- Váženky
- Pipety Biohit proline
- Pravítko
- Papírové pytlíky na sušení

4.3 Metody

4.3.1 Vytvoření živných médií

Pro růst a kultivaci rostlin bylo třeba vytvořit živná média. Každé médium se liší především složením především, v závislosti na účelu. Obecný postup, společný pro všechna média, byl následovný. Do nádoby s cca 600 ml destilované vody bylo naváženo 8 g agaru a směs byla zahřívána v mikrovlnné troubě do úplného rozvaření. Do další nádoby v cca 300 ml destilované vody bylo naváženo 30 g sacharózy, 0,02 g kyseliny askorbové a konkrétní množství komerčního média s obsahem vitamínů. Následně byly obě nádoby slity do jedné a za stálého míchání doplněny do 1 litru destilovanou vodou a upraveny na hodnotu 5,8 pH. Média byla sterilizována ve skleněných nádobách v autoklávu a poté rozlévána do Erlen. baněk po cca 50 ml, a nakonec zakryta alobalovou fólií. Po ztuhnutí byla média připravena pro použití.

4.3.2 Založení in vitro rostlinných kultur

Aby byly podmínky pěstování rostlin sjednocené, probíhalo pozorování v in vitro prostředí. Osivo konopí bylo přebráno a prasklá a nestandardní semena (odlišná barvou a tvarem) byla vyřazena. Vhodné množství semen bylo vloženo do Erlen. baňky. Následně byla semena zalitá 96% ethanolem byla protřepávána 2 minuty na třepačce při otáčkách 135 rpm. Poté byla v laminárním boxu semena scezená, propláchnut sterilní destilovanou vodou a znovu v Erlen. baňce zalita 43% savem s kapkou smáčedla (JAR) a zakryta sterilním alobalem, aby

nedošlo ke kontaminaci z vnějšího prostředí. Takto připravená semena byla opět položena na třepačku a 30 min. míchána při otáčkách 135 rpm. Poté byla semena v laminárním boxu scezena, třikrát propláchnuta sterilní destilovanou vodou a vysypána na sterilní filtrační papír do Petriho misky. Cílem tohoto procesu bylo zajistit maximální sterilitu osiva.

V laminárním boxu byla semena pomocí pinzety po 7 kusech pokládána do předem připravených a sterilizovaných Erlen. baňek na vyautoklávované CO médium, určené na klíčení semen. Následně byla každá Erlen. baňka uzavřena sterilním alobalem a přelepena parafilmem. Označené Erlen. baňky byly vloženy do kultivační místnosti na cca 14 dní při teplotě 19 °C a světelném režimu den/noc 16/8 h.

4.3.3 Namnožení rostlinného materiálu v in vitro podmínkách

Po uplynulých 14 dnech nakličování v kultivační místnosti byly Erlen. baňky s klíčními rostlinami přeneseny do laminárního boxu. Následně byly klíčící rostliny pasážovány na předchystané Li médium tak, že byly skalpelem šikmým řezem odříznuty nodální explantáty a vloženo bylo vždy cca 5 rostlin do jedné Erlen. baňky s Li médiem. Poté byly Erlen. baňky uzavřeny sterilním alobalem, přelepeny parafilmem a ponechány v kultivační místnosti za stejných podmínek jako při klíčení.

Po cca 1 týdnu na iniciačním Li médiu byla provedena pasáž rostlin stejným postupem na připravené agarové Murashige & skoog (MS - P) médium (Murashige et skoog, 1962) s přísadkou vitamínů pro multiplikaci prýtlů. Následně byly rostliny cca každých 14 dní pasážovány na nové MS-P médium až do doby, dokud na nodálním segmentu nevytvořily dostatečné množství prýtlů vhodných pro založení experimentu.

4.3.4 Založení pozorování s osmoticky aktivními látkami simulující sucho

Pro založení pozorování bylo třeba připravit živná média ViVi 6 (Duchefa Farma B.V., Haarlem, Nizozemsko) obohacená o manitol a polyethylenglycol. Postup přípravy byl podobný, jako v kapitole 4.3.1, s tím rozdílem, že bylo vytvořeno vždy pouze 300 ml média s danou koncentrací osmoticky aktivních látek. Všechny látky v médiu obsažené byly tedy přepočítány pro koncentrace na 300 ml, viz tabulka č. 2, důkladně změřeny na odměrném válci a vytvořeny vždy ve 4 koncentracích. Živná média byla následně rozlévána vždy do 6 Erlen. baněk po 50 ml.

Jakmile byly Erlen. baňky s živnými médii nachystány, pasážovány byly vždy 4 vhodné prýty v laminárním boxu do 1 Erlen. baňky šikmým seříznutím nodálního explantátu tak, aby byla zajištěna co největší plocha pro příjem látek z živného média. Seříznutím růstového vrcholu rostliny bylo zajištěno narušení apikální dominance, které vedlo k vymanění axilárních nodálních pupenů z dormance a potažmo k větvení rostlinných explantátů. Výběr prýtů a jejich vkládání na dané koncentrace bylo zcela náhodné. Vytvořeno bylo tedy 12 Erlen. baněk s manitolem, 12 s polyethylenglykolem a 6 Erlen. baněk kontrolních, bez osmoticky aktivních látek. Všechn tento materiál byl vyfotografován a vložen do kultivační místnosti na 3 týdny. Po každém týdnu proběhla kontrola a vyfotografování jednotlivých rostlin.

TABULKA Č. 2 Složení živných médií s osmoticky aktivními látkami

	Agar	Sacharóza	ViVi6	Manitol	PEG	
g/300 ml	1,8	10	2	3	3,3	Koncentrace I.
g/300 ml	1,8	10	2	6	8,25	Koncentrace II.
g/300 ml	1,8	10	2	15	11,7	Koncentrace III.
g/300 ml	1,8	10	2	30,1	16,5	Koncentrace IV.
g/300 ml	1,8	10	2	-	-	Kontrola

Jednotlivé koncentrace látek jsou uvedeny v g/300 ml, kontrolní vzorky neobsahovaly osmotika.

4.3.5 Vyhodnocení výsledků

Při vyhodnocování výsledků byl sledován celkový vzhled rostlin, délky přírůstků prýtů měřené v mm a relativní obsah vody v pletivech vážený v gramech.

Po 3 týdnech v kultivační místnosti byl materiál naposledy vyfotografován a každá rostlina zvlášť byla vytažena z Erlen. baňky, očištěna od zbytků média a pomocí pravítka byly změřeny nově vzrostlé prýty, viz obrázek č. 1. Poté byly rostliny z jednotlivých Erlen. baněk seskupeny na váženky a byla zvážena hmotnost biomasy. Po zvážení a zapsání výsledku byl materiál uložen do papírových pytlíků, poznačen a sušen v sušárně po dobu 12 h při teplotě 90 °C. Po usušení byl materiál opět zvážen. Z rozdílu čerstvé a usušené biomasy byl zjištěn relativní obsah vody v pletivech.

Pro každé pozorování byla vytvořena tabulka, znázorňující naměřené hodnoty. V tabulce č. 3 je možné vidět zvážené hmotnosti biomasy v prvním pozorování při růstu na manitolu (Man) a polyethylenglykolu (PEG), včetně kontroly. V tabulce č. 4 jsou zapsány hodnoty z druhého pozorování.

Pro zjištění výsledku délky přírůstků prýtů byla vytvořena pro obě pozorování tabulka č. 5. Změřen byl samostatně každý prýt na rostlině a následně byl spočítán průměr jednotlivých prýtů z každé Erlen. baňky. V této tabulce je tedy možné vidět průměrné přírůstky prýtů pro každou pozorovanou koncentraci, měřené v mm.

TABULKA Č. 3 Relativní obsah vody v pletivech v gramech a v %, pozorování 1

	Čerstvá hmotnost (g)	Sušina (g)	Obsah vody v pletivech (g)	Obsah vody v pletivech (%)
Kontrola	0,87	0,13	0,74	74
Man I.	0,53	0,08	0,45	45
Man II.	0,50	0,07	0,43	43
Man III.	0,39	0,08	0,31	31
Man IV.	0,32	0,07	0,25	25
Kontrola	0,98	0,14	0,84	84
PEG I.	0,82	0,10	0,72	72
PEG II.	0,62	0,10	0,52	52
PEG III.	0,51	0,09	0,42	42
PEG IV.	0,85	0,15	0,70	70

Se zvyšující se koncentrací manitolu klesal relativní obsah vody v pletivech, kontrolní vzorky dosahovaly v případě polyethylenglykolu i manitolu nejvyšších hodnot.

TABULKA Č. 4 Relativní obsah vody v pletivech v gramech a v %, pozorování 2

	Čerstvá hmotnost (g)	Sušina (g)	Obsah vody v pletivech (g)	Obsah vody v pletivech (%)
Kontrola	0,55	0,09	0,46	46
Man I.	2,12	0,28	1,84	184
Man II.	1,14	0,19	0,95	95
Man III.	0,99	0,19	0,8	80
Man IV.	0,57	0,10	0,47	47
Kontrola	1,15	0,17	0,98	98
PEG I.	1,43	0,22	1,21	121
PEG II.	0,99	0,17	0,82	82
PEG III.	2,31	0,36	1,95	195
PEG IV.	1,92	0,31	1,61	161

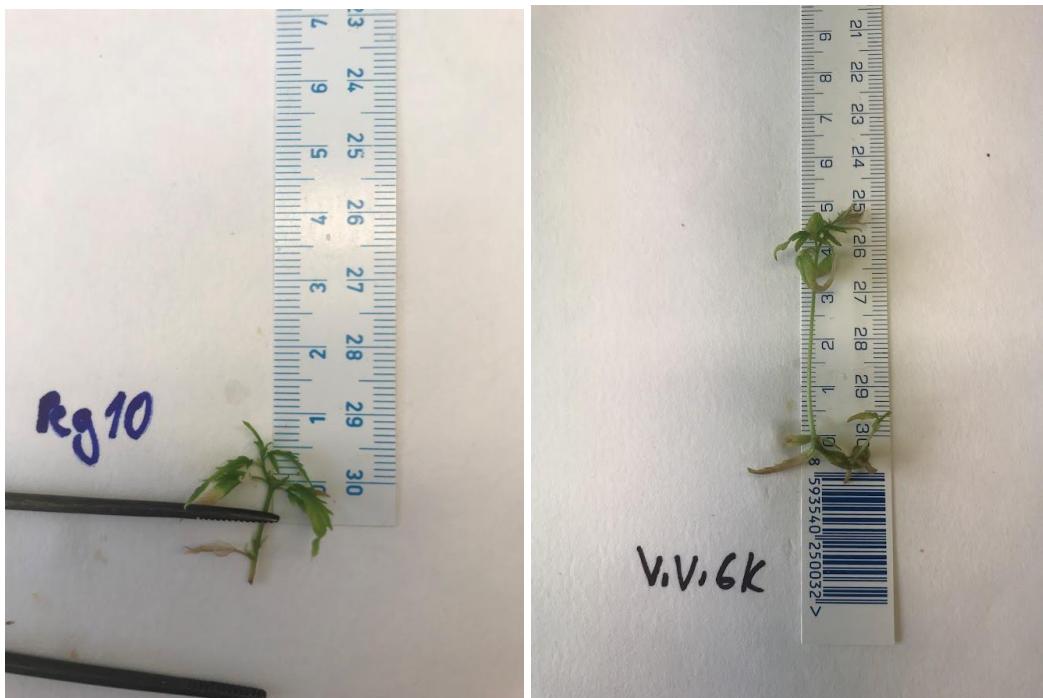
Ve druhém opakování došlo ke kontaminaci kontrolních vzorků, což se promítlo do výsledků měření.

TABULKA Č. 5 Průměr přírůstků prýtlů, měřený v mm

	Opakování 1	Opakování 2
Kontrola	16,16	9,37
Man I.	5,14	4,21
Man II.	4,33	4,23
Man III.	1,58	2,38
Man IV.	0,25	0,08

	Opakování 1	Opakování 2
Kontrola	21,26	16,8
PEG I.	7,87	10,35
PEG II.	8,35	10,94
PEG III.	6,30	11,11
PEG IV.	10	12,43

Nepřímá úměra-čím vyšší koncentrace manitolu, tím nižší průměrné přírůstky prýtlů.
U polyethylenglykolu tato úměra nebyla pozorována.



OBRÁZEK Č. 1 Měření délky přírůstků jednotlivých prýtů u koncentrace PEG I. (vlevo) a u kontrolního vzorku (vpravo)

5. Výsledky

5.1. Relativní obsah vody v pletivech

Obsah vody v rostlinných pletivech je ovlivněn především možností příjmu vody z vnějšího prostředí. Osmoticky aktivní látky přidané do média způsobily rostlinám míru stresu přímo úměrnou ke koncentraci osmotika v médiu. Pro porovnání působení manitolu a polyethylenglykolu byl pro každou koncentraci počítán z rozdílu hodnot čerstvé biomasy a sušiny relativní obsah vody v pletivech.

V grafu č. 1 můžeme vidět, že při prvním pozorování došlo u rostlin rostoucích na manitolu k viditelnému snižování relativního obsahu vody v pletivech směrem od kontroly, kde byly hodnoty nejvyšší (0,74 g) až po koncentraci Man IV., kde byla naměřena hodnota 0,25 g.

V tomtéž pozorování bylo u rostlin rostoucích na polyethylenglykolu zaznamenáno směrem od kontroly snižování hodnot, až po poslední koncentraci PEG IV., kde byl relativní obsah vody lehce vyšší, oproti předešlým dvěma koncentracím. Rostliny byly při této koncentraci vitrifikované a hyperhydricidní a některé z nich tvořily květ. Obojí značí výrazný stres rostlinných explantátů. Tento stresový faktor relativní obsah vody v pletivech navyšoval.

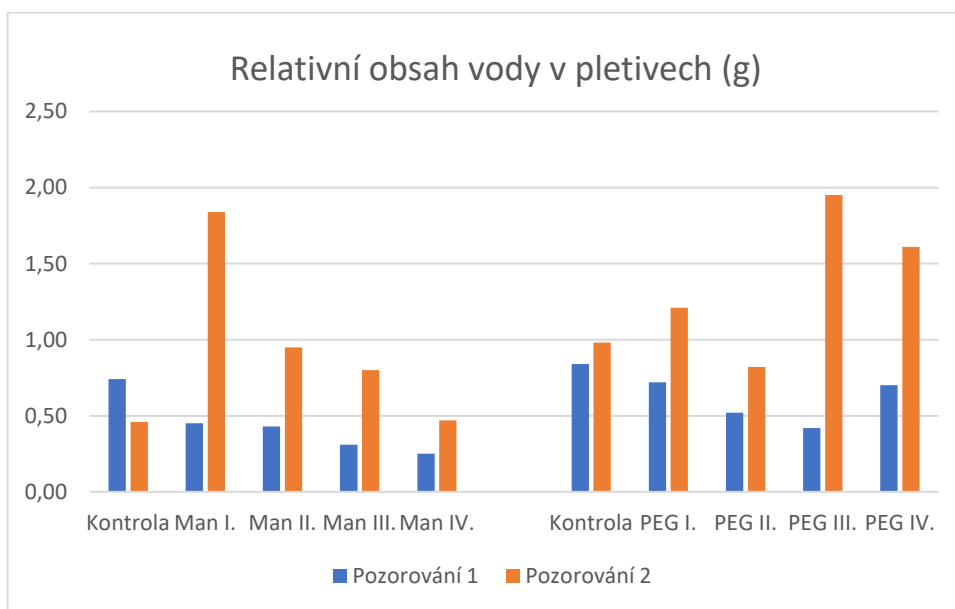
V druhém pozorování lze v případě rostlin rostoucích na manitolu sledovat sestupný trend hodnot od Man I. po Man IV. U polyethylenglykolu byly při vyšších koncentracích této látky opět pozorovány vitrifikované prýty, případně květy, díky kterým jsou hodnoty u PEG III. a PEG IV. výrazně vyšší než u předchozích dvou koncentrací.

Kontrolní vzorky byly u druhého pozorování kontaminovány endogenními vnitrobuněčnými rostlinnými bakteriemi, což ovlivnilo růst a vývoj rostlin a následně i výsledné hodnoty. Nelze je tedy porovnávat s ostatními koncentracemi.

Obecně lze říct, že se zvyšující se koncentrací manitolu v živném médiu se snižoval relativní obsah vody v pletivech, docházelo k postupnému vadnutí, žloutnutí a nekrotizaci listů,

až k odumírání celých rostlin v případě nejvyšších koncentrací, jako je možné vidět na obrázku č. 2.

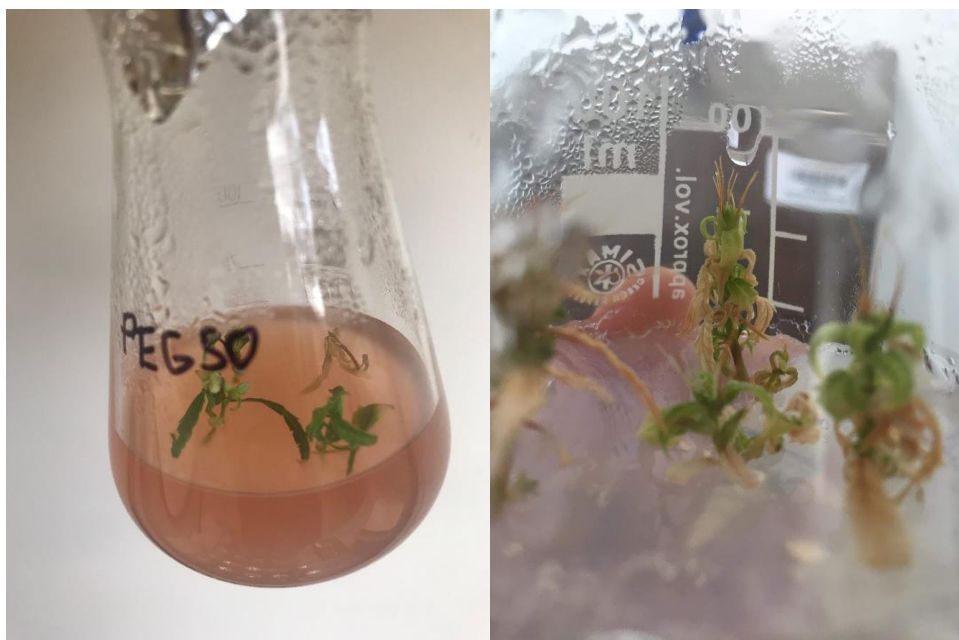
Polyethylenglykol způsoboval při nejvyšších koncentracích přechod do generativní fáze vývoje rostlin, vitrifikaci prýtlů a v některých případech odumření celé rostliny, viz obrázek č. 3. Na intenzitu působení této látky měl nejspíše vliv genetický potenciál jednotlivých semen, kdy odolnější rostliny stres ze sníženého vodního potenciálu přežívaly a docházelo k nakvétání a méně odolné rostliny odumíraly.



Graf č.1. Relativní obsah vody v pletivech (g) u obou osmotik a obou pozorování



OBRÁZEK Č. 2 Odumírající rostliny na živném médiu s koncentrací Man IV., 3. týden růstu



OBRÁZEK Č. 3 Vitřifikované, odumírající a kvetoucí rostliny na živném médiu s koncentrací PEG IV., 3. týden růstu

5.2 Délka přírůstků prýtlů

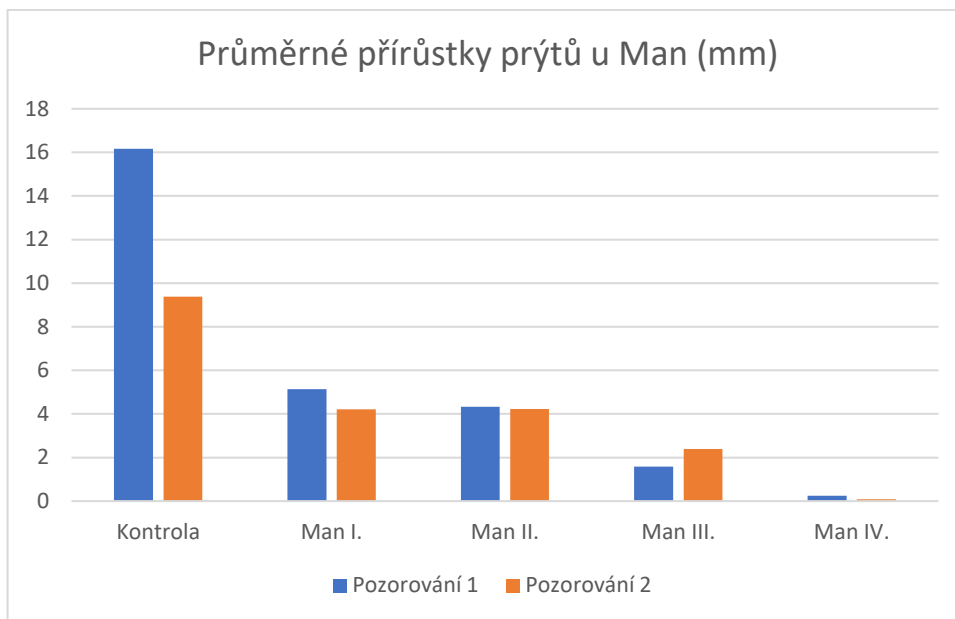
Pokud má rostlina dostatek vláhy, je schopná růst a tvořit nové prýtlky. Pro porovnání účinku manitolu a polyethylenglykolu byl sledován průměrný přírůstek prýtlů dosažený za 3 týdny růstu v Erlen. baňkách s jednotlivými koncentracemi osmotik.

Průměry těchto přírůstků na jednotlivých koncentracích manitolu včetně kontroly lze vidět v grafu č. 2. Průměry přírůstků prýtlů rostoucích na polyethylenglykolu, včetně kontroly, je možné vidět v grafu č. 3.

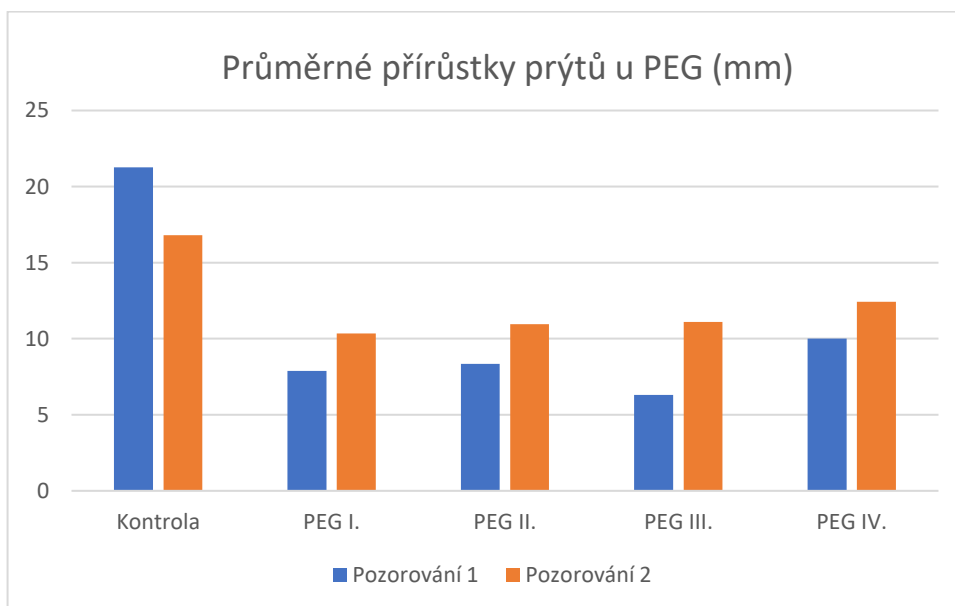
V případě obou pozorování u rostlin rostoucích na médiu s přídavkem manitolu bylo znatelné zastavení růstu prýtlů a v případě nejvyšší koncentrace Man IV. docházelo až k odumírání celých rostlin. Čím vyšší byla koncentrace manitolu, tím menší přírůstky prýtlů byly pozorovány. Porovnání růstu rostlin na nejnižší a na nejvyšší koncentraci manitolu lze vidět na obrázku č. 4.

Přírůstky prýtlů rostoucích na polyethylenglykolu nevykazovaly žádný zřetelný trend. V případě kontroly byly přírůstky u obou pozorování nejvyšší, ovšem zdá se, že růst rostlin nebyl nijak zvlášť koncentrací polyethylenglykolu v živném médiu ovlivněn. Porovnání růstu rostlin na nejnižší a na nejvyšší koncentraci polyethylenglykolu je možné vidět na obrázku č. 5.

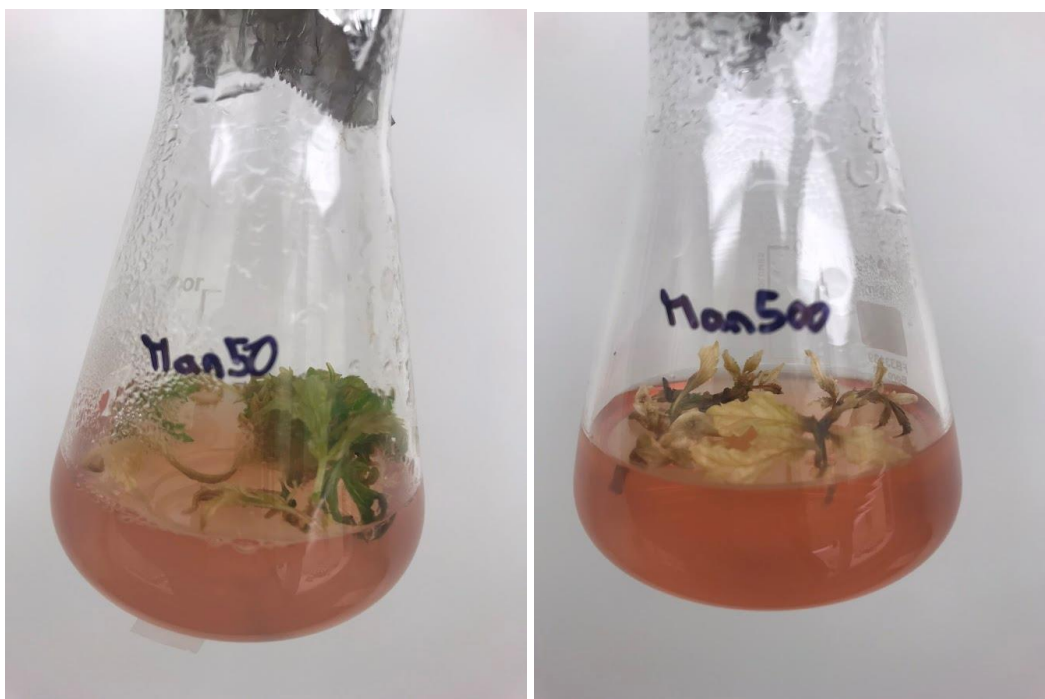
Ačkoli kontrolní vzorky byly při druhém pozorování ovlivněny kontaminací, přesto byly průměrné přírůstky na těchto vzorcích nejvyšší.



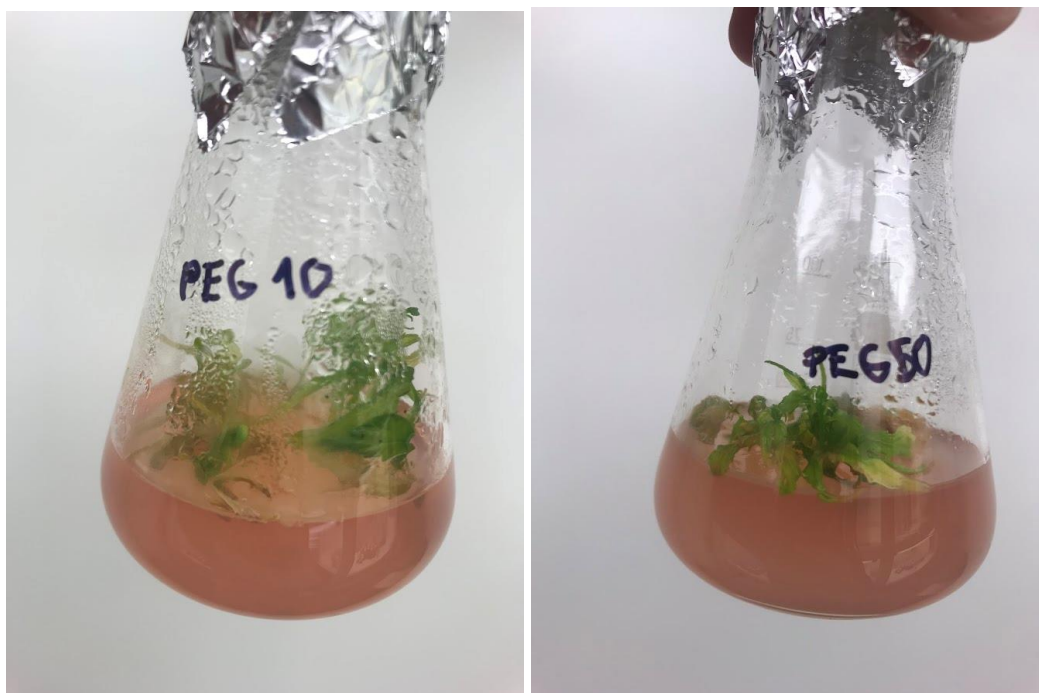
Graf č.2. Průměrné přírůstky prýtů u Man, měřené v mm.



Graf č.3. Průměrné přírůstky prýtů u PEG, měřené v mm.



OBRÁZEK Č. 4 Srovnání růstu rostlin na nejnižší koncentraci Man I. (vlevo) a na nejvyšší koncentraci Man IV. (vpravo), 3. týden růstu. Rozdíl je patrný.



OBRÁZEK Č. 5 Srovnání růstu rostlin na nejnižší koncentraci PEG I. (vlevo) a na nejvyšší koncentraci PEG IV. (vpravo), 3. týden růstu. Rozdíl je nepatrný.

6. Diskuze

V této práci byl porovnáván vliv působení dvou osmoticky aktivních látek manitolu a polyethylenglykolu na rostliny *Cannabis sativa* L. v in vitro podmínkách. Metodika byla z velké části inspirována metodikou Jiroutové a Kovalíkové (2021), která pracovala s odolností ovocných dřevin vůči suchu a v níž byl jako osmoticky aktivní látka použit polyethylenglykol v koncentraci 50 g/l živného média, což odpovídá IV. koncentraci v naší práci. Jiroutová a Kovalíková (2021) předkládají použití polyethylenglykolu jako vhodnou látku pro rychlý screening různých rostlinných kultur v laboratorních podmínkách. V naší práci měly rostliny při nižších koncentracích této látky ve většině případech velmi omezený růst a až při nejvyšší koncentraci PEG IV. dosahovaly přírůstky prýtů hned po kontrolních vzorcích nejvyšších hodnot. V práci Molnara et al. (2022), kde byl studován vliv polyethylenglykolu na pět kultivarů borůvek bylo použito 5 koncentrací polyethylenglykolu, kdy při nejvyšší koncentraci 50 g/l nebyl stres zcela dobře tolerován, zatímco koncentrace pod 50 g/l vedly k překonávání stresu a u některých odrůd i k bujnějšímu růstu, v porovnání s kontrolními vzorky. Reakce jednotlivých druhů rostlin k různým koncentracím polyethylenglykolu v živném médiu se zřejmě liší a závisí na vícero faktorech. V naší práci vedl stres navozený polyethylenglykolem se stoupající koncentrací k vitifikaci listů a nakvétání rostlin konopí, což ovlivnilo především výsledky měření hmotnosti. V případě dalšího zkoumání vlivu sucha na rostliny konopí při použití polyethylenglykolu by jistě bylo vhodné hodnotit vícero parametrů, jako např. změnu listové plochy či stanovení obsahu kyseliny abscisové a dalších fyziologických morfologických a biochemických parametrů, úzce spojených s reakcí rostlin na stres suchem.

Sattar et al. (2021) ve své práci, zabývající se vlivem sucha a zasolení na rostliny bramborových kultivarů v in vitro prostředí využívá manitolu ve třech koncentracích od 0 do 250 mM, přičemž ve výsledku své práce popisuje zpomalení růstu jednotlivých částí rostlin, nikoli úmrtí. V naší práci byl manitol použitý ve 4 koncentracích, kdy nejvyšší koncentrace byla o polovinu vyšší, 500 mM. Při takto vysoké koncentraci již docházelo k odumření téměř veškerého rostlinného materiálu. Efekt působení manitolu na rostlinný materiál v naší práci je tedy srovnatelný s efektem této látky v práci Sattara et al. (2021).

Jelikož v České republice dosud není vytvořena žádná metodika, která by pracovala s osmoticky aktivními látkami navozujícími rostlinám konopí vodní deficit a jelikož konopí je rostlina, která poměrně ochotně roste v in vitro podmínkách, bylo by vhodné se na tuto oblast zaměřit a provést další pozorování. Díky těmto in vitro laboratorním technikám lze na malé ploše připravit velké množství rostlinného materiálu, zpřesnit a zrychlit vyhodnocování zefektivnit tak šlechtění nových, odolnějších odrůd plodin.

7. Závěr

Pozorování probíhalo ve dvou opakováních, kdy první opakování proběhlo v období červenec-srpen 2022 a druhé opakování v období září-říjen 2022. Při druhém pozorování se v kontrolních vzorcích vyskytla komplikace v podobě kontaminací. Kontaminace kontrolních vzorků měly pravděpodobně vliv na růst a celkovou vitalitu rostlin, což se promítlo i do výsledků jednotlivých měření, jelikož se kontaminované rostliny nepočítaly do celkového průměru hodnot.

U rostlin rostoucích na koncentracích manitolu I. a II. byl pozorován pomalejší růst a nižší vitalita v porovnání s kontrolními vzorky. U koncentrace Man III. byla míra stresu vyšší, růst byl ve většině případů pozastaven úplně a v některých případech došlo i k odumření celých rostlin. Při růstu na nejvyšší koncentraci manitolu došlo u rostlin během 3 týdnů ve většině případů k odumření. Trend růstu rostlin byl v každém pozorování v případě manitolu sestupný, směrem od nejnižší koncentrace manitolu v médiu, kdy rostliny byly schopny přežít, až k nejvyšší koncentraci, která vedla k odumření rostlin. Manitol se tedy prokázal jako látka vhodná pro metodiky posuzující reakce rostlin na vodní deficit.

U rostlin rostoucích na médiích s přidavkem polyethylenglykolu nebyl vliv jednotlivých koncentrací této látky na růst rostlin zcela patrný. V určitých případech byl růst rostlin pozastaven, případně došlo i k odumření prýtů rostlin na nejnižších koncentracích polyethylenglykolu, v jiných případech byl pozorován nárůst biomasy na médiu s nejvyšší koncentrací této látky. Vliv působení jednotlivých koncentrací polyethylenglykolu na růst rostlin v našem pozorování nebyl zcela patrný a tato látka se neprokázala jako látka vhodná pro použití v metodice zjišťující vliv sucha u rostlin konopí. Pro zpřesnění této metodiky by bylo vhodné provést vícero opakování na vícero genotypech konopí, popř. upravit jednotlivé koncentrace osmoticky aktivních látek či analyzovat větší množství parametrů.

8. Literatura

Adesina, Ifeoluwa, Arnab Bhowmik, Harmandeep Sharma, a Abolghasem Shahbazi. 2020. „A Review on the Current State of Knowledge of Growing Conditions, Agronomic Soil Health Practices and Utilities of Hemp in the United States". *Agriculture* 10 (4): 129. <https://doi.org/10.3390/agriculture10040129>.

Ahmad, Rafiq, Zara Tehsin, Samina Tanvir Malik, Saeed Ahmad Asad, Muhammad Shahzad, Muhammad Bilal, Mohammad Maroof Shah, a Sabaz Ali Khan. 2016. „Phytoremediation Potential of Hemp (*Cannabis Sativa* L.): Identification and Characterization of Heavy Metals Responsive Genes: Biotechnology". *CLEAN - Soil, Air, Water* 44 (2): 195–201. <https://doi.org/10.1002/clen.201500117>.

Backer, Rachel, Timothy Schwingamer, Phillip Rosenbaum, Vincent McCarty, Samuel Eichhorn Bilodeau, Dongmei Lyu, Md Bulbul Ahmed, et al. 2019. „Closing the Yield Gap for Cannabis: A Meta-Analysis of Factors Determining Cannabis Yield". *Frontiers in Plant Science* 10 (duben): 495. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00495>.

Benelli, Giovanni, Roman Pavela, Riccardo Petrelli, Loredana Cappellacci, Giuseppe Santini, Dennis Fiorini, Stefania Sut, Stefano Dall’Acqua, Angelo Canale, a Filippo Maggi. 2018. „The Essential Oil from Industrial Hemp (*Cannabis Sativa* L.) by-Products as an Effective Tool for Insect Pest Management in Organic Crops". *Industrial Crops and Products* 122 (říjen): 308–15. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.032>.

Bourmaud, Alain, Antoine Le Duigou, a Christophe Baley. 2011. „What Is the Technical and Environmental Interest in Reusing a Recycled Polypropylene–Hemp Fibre Composite?" *Polymer Degradation and Stability* 96 (10): 1732–39. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2011.08.003>.

Brázdil, Rudolf, a Miroslav Trnka. 2015. *Historie počasí a podnebí v Českých zemích. Svazek XI, Sucho v Českých zemích: minulost, současnost, budoucnost. První vydání. Brno: Centrum výzkumu globální změny Akademie věd České republiky, v.v.i.*

Callaway, J. C. 2004. „Hempseed as a Nutritional Resource: An Overview". *Euphytica* 140 (1–2): 65–72. <https://doi.org/10.1007/s10681-004-4811-6>.

Clarke, Robert Connell, a Mark Merlin. 2016. *Cannabis: Evolution and Ethnobotany*. First paperback printing. Berkeley Los Angeles London: University of California Press.

Česko. 2021. o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. Roč. 2021.

Česko. 2022. o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon). Roč. 2021.

Český hydrometeorologický ústav ČR. 2021. „Sluneční svit“. Klimatologická ročenka (blog). 2021. <https://info.chmi.cz/rocenka/meteo2021/index.php>.

Deeley, Marc R. 2002. „Could Cannabis Provide an Answer to Climate Change?“ *Journal Industrial Hemp* 7 (1): 133–38. https://doi.org/10.1300/J237v07n01_11.

Demmig-Adams, B, a W W Adams. 1992. „Photoprotection and Other Responses of Plants to High Light Stress“. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43 (1): 599–626. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.43.060192.003123>.

Duque Schumacher, Ana Gabriela, Sérgio Pequito, a Jennifer Pazour. 2020. „Industrial Hemp Fiber: A Sustainable and Economical Alternative to Cotton“. *Journal of Cleaner Production* 268 (září): 122180. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122180>.

Fike, John. 2016. „Industrial Hemp: Renewed Opportunities for an Ancient Crop“. *Critical Reviews in Plant Sciences* 35 (5–6): 406–24. <https://doi.org/10.1080/07352689.2016.1257842>.

Fu, Xiao-Gang, Shui-Yin Liu, Robin van Velzen, Gregory W. Stull, Qin Tian, Yun-Xia Li, Ryan A. Folk, et al. 2022. „Phylogenomic Analysis of the Hemp Family (Cannabaceae) Reveals Deep Cyto-nuclear Discordance and Provides New Insights into Generic Relationships“. *Journal of Systematics and Evolution*, prosinec, jse.12920. <https://doi.org/10.1111/jse.12920>.

Gill, Alison R., Beth R. Loveys, James M. Cowley, Tony Hall, Timothy R. Cavagnaro, a Rachel A. Burton. 2022. „Physiological and Morphological Responses of Industrial Hemp (*Cannabis Sativa* L.) to Water Deficit“. *Industrial Crops and Products* 187 (listopad): 115331. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115331>.

Hammami, Nada, Jean-Pierre Privé, a Gaétan Moreau. 2022. „Spatiotemporal Variability and Sensitivity of Industrial Hemp Cultivars under Variable Field Conditions". *European Journal of Agronomy* 138 (srpen): 126549. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2022.126549>.

Hanegraaf, Marjoleine C, Edo E Biewinga, a Gert van derBijl. 1998. „Assessing the Ecological and Economic Sustainability of Energy Crops". *Biomass and Bioenergy* 15 (4–5): 345–55. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(98\)00042-7](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(98)00042-7).

Heim, Richard R. 2002. „A Review of Twentieth-Century Drought Indices Used in the United States". *Bulletin of the American Meteorological Society* 83 (8): 1149–66. <https://doi.org/10.1175/1520-0477-83.8.1149>.

Chandra, Suman, Hemant Lata, a Mahmoud A. ElSohly, ed. 2017. *Cannabis Sativa L. - Botany and Biotechnology*. Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6>.

Ji, Anqi, Linjing Jia, Deepak Kumar, a Chang Geun Yoo. 2021. „Recent Advancements in Biological Conversion of Industrial Hemp for Biofuel and Value-Added Products". *Fermentation* 7 (1): 6. <https://doi.org/10.3390/fermentation7010006>.

Jiroutová, Petra, a Zuzana Kovalíková. 2021. *Certifikovaná metodika odolnosti ovocných plodín k suchu v in vitro podmínkách*. Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.

Kaczorová, D., Béres, T, Čavar Zeljković, S., Bjelková, M, Kuchař, M., a Tarkowski, P. 2020. „O konopí bez předsudků", 114(4), 277–284, 2020.

Kašpárek, Ladislav, a Roman Kožín. 2022. „Změny srážek a odtoků na povodích v ČR v období intenzivního oteplování". *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace* 64 (2): 17. <https://doi.org/10.46555/VTEI.2022.01.002>.

Konopa. 2007. *Konopí - biomasa pro život*. Chvaleč: Konopa.

Kumar, Nitish, a M.P. Reddy. 2011. „In vitro Plant Propagation: A Review". *Journal of Forest and Environmental Science* 27 (2): 61–72. <https://doi.org/10.7747/JFS.2011.27.2.1>.

Kweku, Darkwah, Odum Bismark, Addae Maxwell, Koomson Desmond, Kwakye Danso, Ewurabena Oti-Mensah, Asenso Quachie, a Buanya Adormaa. 2018. „Greenhouse Effect: Greenhouse Gases and Their Impact on Global Warming". *Journal of Scientific Research and Reports* 17 (6): 1–9. <https://doi.org/10.9734/JSRR/2017/39630>.

Łabędzki, Leszek, a Bogdan Bąk. 2015. „Meteorological and agricultural drought indices used in drought monitoring in Poland: a review". *Meteorology Hydrology and Water Management* 2 (2): 3–14. <https://doi.org/10.26491/mhwm/34265>.

Leson, Gero. 2006. „Hemp Seeds for Nutrition". Leson & Associates. Berkeley, CA (USA).

Lichtenthaler, Hartmut K. 1996. „Vegetation Stress: An Introduction to the Stress Concept in Plants". *Journal of Plant Physiology* 148 (1–2): 4–14. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(96\)80287-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80287-2).

Linger, P., J. Müssig, H. Fischer, a J. Kobert. 2002. „Industrial Hemp (Cannabis Sativa L.) Growing on Heavy Metal Contaminated Soil: Fibre Quality and Phytoremediation Potential". *Industrial Crops and Products* 16 (1): 33–42. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(02\)00005-5](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(02)00005-5).

Maitah, Mansoor, Karel Malec, a Kamil Maitah. 2021. „Influence of Precipitation and Temperature on Maize Production in the Czech Republic from 2002 to 2019". *Scientific Reports* 11 (1): 10467. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89962-2>.

Miovský, Michal. 2008. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. 1. vyd. Praha: Grada.

Mishra, Ashok K., a Vijay P. Singh. 2010. „A Review of Drought Concepts". *Journal of Hydrology* 391 (1–2): 202–16. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.07.012>.

Moliterni, V. M. Cristiana, Luigi Cattivelli, P. Ranalli, a Giuseppe Mandolino. 2004. „The Sexual Differentiation of Cannabis Sativa L.: A Morphological and Molecular Study". *Euphytica* 140 (1–2): 95–106. <https://doi.org/10.1007/s10681-004-4758-7>.

Molnar, Sabin, Doina Clapa, a Viorel Mitre. 2022. „Response of the Five Highbush Blueberry Cultivars to In Vitro Induced Drought Stress by Polyethylene Glycol". *Agronomy* 12 (3): 732. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030732>.

Paulsen, Gary M. 2015. „High Temperature Responses of Crop Plants". In *ASA, CSSA, and SSSA Books*, editoval K. J. Boote, J. M. Bennett, T. R. Sinclair, a G. M. Paulsen, 365–89. Madison, WI, USA: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. <https://doi.org/10.2134/1994.physiologyanddetermination.c25>.

Pavlová, Libuše. 2005. *Fyziologie rostlin*. 1. vyd. Praha: Karolinum.

Petit, Jordi, Elma M. J. Salentijn, Maria-João Paulo, Christel Denneboom, a Luisa M. Trindade. 2020. „Genetic Architecture of Flowering Time and Sex Determination in Hemp (Cannabis sativa L.): A Genome-Wide Association Study". *Frontiers in Plant Science* 11 (listopad): 569958. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.569958>.

Pickering, K.L., G.W. Beckermann, S.N. Alam, a N.J. Foreman. 2007. „Optimising Industrial Hemp Fibre for Composites". *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* 38 (2): 461–68. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2006.02.020>.

Piotrowski, Stephan, a Michael Carus. 2023. „Ecological benefits of hemp and flax cultivation and products", duben.

Pudełko, Krzysztof, Jacek Kołodziej, a Jerzy Mańkowski. 2021. „Restoration of Minesoil Organic Matter by Cultivation of Fiber Hemp (Cannabis Sativa L.) on Lignite Post-Mining Areas". *Industrial Crops and Products* 171 (listopad): 113921. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113921>.

Rehman, Muzammal, Shah Fahad, Guanghui Du, Xia Cheng, Yang Yang, Kailei Tang, Lijun Liu, Fei-Hu Liu, a Gang Deng. 2021. „Evaluation of Hemp (Cannabis Sativa L.) as an Industrial

Crop: A Review". *Environmental Science and Pollution Research* 28 (38): 52832–43. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16264-5>.

Sattar, Farooq Abdul, Bahget Talat Hamooh, Gordon Wellman, Md. Arfan Ali, Saad Hussain Shah, Yasir Anwar, a Magdi Ali Ahmed Mousa. 2021. „Growth and Biochemical Responses of Potato Cultivars under In Vitro Lithium Chloride and Mannitol Simulated Salinity and Drought Stress". *Plants* 10 (5): 924. <https://doi.org/10.3390/plants10050924>.

Schilling, Susanne, Rainer Melzer, Caroline A. Dowling, Jiaqi Shi, Shaun Muldoon, a Paul F. McCabe. 2023. „A Protocol for Rapid Generation Cycling (Speed Breeding) of Hemp (*Cannabis Sativa*) for Research and Agriculture". *The Plant Journal* 113 (3): 437–45. <https://doi.org/10.1111/tpj.16051>.

Small, Ernest, D. Marcus, Jules Janick, a Anna Whipkey. 2002. „Hemp: a new crop with new uses for North America." In .

Struik, P.C., S. Amaducci, M.J. Bullard, N.C. Stutterheim, G. Venturi, a H.T.H. Cromack. 2000. „Agronomy of Fibre Hemp (*Cannabis Sativa* L.) in Europe". *Industrial Crops and Products* 11 (2–3): 107–18. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(99\)00048-5](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(99)00048-5).

Tang, Kailei, Alessandra Fracasso, Paul C. Struik, Xinyou Yin, a Stefano Amaducci. 2018. „Water- and Nitrogen-Use Efficiencies of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Based on Whole-Canopy Measurements and Modeling". *Frontiers in Plant Science* 9 (červenec): 951. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00951>.

Touw, Mia. 1981. „The Religious and Medicinal Uses of *Cannabis* in China, India and Tibet". *Journal of Psychoactive Drugs* 13 (1): 23–34. <https://doi.org/10.1080/02791072.1981.10471447>.

Vondráková, Alena, Aleš Vávra, a Vít Voženílek. 2013. „Climatic Regions of the Czech Republic". *Journal of Maps* 9 (3): 425–30. <https://doi.org/10.1080/17445647.2013.800827>.

Wang, Wangxia, Basia Vinocur, Oded Shoseyov, a Arie Altman. 2004. „Role of Plant Heat-Shock Proteins and Molecular Chaperones in the Abiotic Stress Response". *Trends in Plant Science* 9 (5): 244–52. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.006>.

White, C. Michael. 2019. „A Review of Human Studies Assessing Cannabidiol's (CBD) Therapeutic Actions and Potential". *The Journal of Clinical Pharmacology* 59 (7): 923–34. <https://doi.org/10.1002/jcph.1387>.

Wimalasiri, Eranga M., Ebrahim Jahanshiri, Vimbayi G.P. Chimonyo, Niluka Kurupparachchi, T.A.S.T.M. Suhairi, Sayed N. Azam-Ali, a Peter J. Gregory. 2021. „A Framework for the Development of Hemp (Cannabis Sativa L.) as a Crop for the Future in Tropical Environments". *Industrial Crops and Products* 172 (listopad): 113999. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113999>.

Wirtshafter, Don E. 2004. „Ten Years of a Modern Hemp Industry". *Journal of Industrial Hemp* 9 (1): 9–14. https://doi.org/10.1300/J237v09n01_03.

Zhang, Huanlei, Jianjun Jin, Michael J. Moore, Tingshuang Yi, a Dezhu Li. 2018. „Plastome Characteristics of Cannabaceae". *Plant Diversity* 40 (3): 127–37. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.04.003>.

Zimniewska, Malgorzata. 2022. „Hemp Fibre Properties and Processing Target Textile: A Review". *Materials* 15 (5): 1901. <https://doi.org/10.3390/ma15051901>.

Żróbek-Sokolnik, Anna. 2012. „Temperature Stress and Responses of Plants". In *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*, editoval Parvaiz Ahmad a M.N.V. Prasad, 113–34. New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0815-4_5.

Zuardi, Antonio Waldo. 2006. „History of cannabis as a medicine: a review". *Revista Brasileira de Psiquiatria* 28 (2): 153–57. <https://doi.org/10.1590/S1516-44462006000200015>.

Žalud, Zdeněk., Miroslav Trnka, a Petr Hlavinka. 2019. *Zemědělské sucho v České republice - vývoj, dopady a adaptace*. Praha: Agrární komora České republiky.