

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv mechanického odstranění vegetačního vrcholu na
habitus a sekundární metabolity rostlin léčebného konopí**

Diplomová práce

Petr Kolín

Výživa a ochrana rostlin

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

Konzultant: Ing. Matěj Malík, PhD

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv mechanického odstranění vegetačního vrcholu na habitus a sekundární metabolity rostlin léčebného konopí" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. dubna 2023

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval prof. Ing. Pavlu Tlustošovi, CSc., dr. h. c., konzultantovi Ing. Matěji Malíkovi, PhD, za jejich odbornou pomoc, cenné rady a trpělivost při zpracovávání závěrečné práce. Také bych rád tímto poděkoval Ing. Aleksandře Kuklině za pomoc při provádění pokusů a pomoc při zpracovávání výsledků. V neposlední řadě také rodině, přítelkyni, přátelům a spolužákům, kteří mě doprovázeli celým studiem, byli mi oporou, motivací a zlepšovali náladu v těch nejdůležitějších momentech.

Vliv mechanického odstranění vegetačního vrcholu na habitus a sekundární metabolity rostlin léčebného konopí

Souhrn

Léčebné konopí se setkává v posledních letech se zvýšeným zájmem nejen ze strany odborné veřejnosti. Jeho postupná dekriminlizace, zlepšení technologií a použití v lékařství přivádí množství lidí k jeho pěstování. Právě pěstování v kontrolovaných podmínkách ve vnitřním prostředí pěstíren přináší možnost produkce stabilních a uniformních produktů. Existuje řada způsobů používaných k optimalizaci výnosů a složení léčebného konopí. V rámci této diplomové práce byla zpracována literární rešerše týkající se pěstování léčebného konopí, jeho metabolitů a faktorů ovlivňujících růst konopí a tvorbu metabolitů. V experimentální části byl zjišťován v prostředí uzavřené vnitřní pěstírny na Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze vliv odstranění vegetačního vrcholu na tvorbu biomasy a tvorbu vybraných sekundárních metabolitů (THCA, CBNA, cannflavin A, limonen a β -karyofylen). Získaná data byla navzájem porovnávána mezi ošetřenou a neošetřenou variantou a následně srovnána s dostupnou literaturou. Výsledky experimentu nepotvrdily stanovenou hypotézu, tedy nedošlo ke statisticky významnému nárůstu koncentrace sekundárních metabolitů ani k nárůstu výnosu biomasy. Výsledky ukázali trend opačný, tedy že pozorované metabolity po zásahu do habitu rostliny dosahovali nižších hodnot v porovnání s neošetřenými rostlinami. Stejně tak se po zásahu snížil výnos suché hmoty rostlin. Dostupná publikovaná literatura uvádí, že změny v koncentraci sekundárních metabolitů mohou po zásazích do habitu rostliny nastat, avšak nedochází ke změnám výrazným. Poznotek, že by mělo dojít také ke snížení výnosu suché biomasy se s dosud publikovanou literaturou rozcházel, jelikož autoři uvádí po zásazích jeho nárůst.

Klíčová slova: Léčebné konopí, hydroponie, kanabinoidy, sekundární metabolity, vegetační vrchol

The Effect of Mechanical Removal of Apical Meristem on the Medical Cannabis Plant Habitus and Development of Secondary Metabolites

Summary

In recent years, there has been an increased interest in medicinal cannabis not only among scientific community but also among the general public. Its gradual decriminalization, improvement of technologies, and use in medicine are leading many people to cultivate it. Growing in controlled indoor conditions provides the possibility of producing stable and uniform products. There are various methods used to optimize the yield and composition of medicinal cannabis. In this thesis, a literature review was conducted on the cultivation of medicinal cannabis, its metabolites, and factors affecting the growth of cannabis and the formation of metabolites. In the experimental part, the effect of removal of apical meristem on the cannabis plant on biomass production and the formation of selected secondary metabolites (THCA, CBNA, cannflavin A, limonene and β -caryophyllene) was studied in the indoor environment of the Faculty of Agrobiological Sciences, Food, and Natural Resources at the Czech University of Life Sciences in Prague. The acquired data were compared between the treated and untreated variants and subsequently compared with available literature. The results of the experiment did not confirm the established hypothesis, i.e., there was no statistically significant increase in the concentration of secondary metabolites or in the yield of biomass. The results showed an opposite trend, i.e., the observed metabolites after the plant's architecture change reached lower values compared to untreated plants. Similarly, the yield of dry plant matter decreased after the intervention. Available published literature states that changes in the concentration of secondary metabolites can occur after plant habit interventions, but there are no significant changes. The finding that there should also be a decrease in the yield of dry biomass differed from the previously published literature, as the authors report an increase after interventions.

Keywords: Medical cannabis, hydroponics, cannabinoids, secondary metabolites, apical meristem

Obsah

1	Úvod	10
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	11
2.1	Hypotéza.....	11
2.2	Cíle práce	11
3	Literární řešerše.....	12
3.1	Taxonomické zařazení	12
3.2	Botanická charakteristika	13
3.2.1	Popis.....	13
3.2.1.1	Stonek.....	13
3.2.1.2	Kořen.....	13
3.2.1.3	Listy.....	13
3.2.1.4	Trichomy	13
3.2.1.5	Květ a plod	14
3.2.2	<i>Cannabis sativa</i> L.	15
3.2.3	<i>Cannabis indica</i> Lam.	15
3.2.4	<i>Cannabis ruderalis</i> Janisch.....	16
3.2.5	Hybridy a odrůdy	16
3.3	Význam konopí.....	17
3.3.1	Léčebné x Technické konopí a legislativa	17
3.3.2	Technické konopí.....	18
3.3.3	Léčebné konopí.....	18
3.4	Způsob pěstování.....	19
3.4.1	Venkovní pěstování	19
3.4.2	Pěstování ve vnitřním prostředí	20
3.4.2.1	Hydroponie.....	20
3.4.2.2	Akvaponie	20
3.5	Produkty sekundárního metabolismu	20
3.5.1	Kanabinoidy	20
3.5.1.1	Biosyntéza kanabinoidů	22
3.5.1.2	Tetrahydrokanabinol – THC	23
3.5.1.3	Kanabidiol – CBD.....	24
3.5.1.4	Kanabinol – CBN.....	24
3.5.1.5	Kanabigerol – CBG.....	24
3.5.1.6	Kanabichromen – CBC	25
3.5.1.7	Kanabinodiol – CBND.....	25

3.5.1.8	Chemotypy.....	25
3.5.2	Terpeny a terpenoidy	25
3.5.2.1	Syntéza terpenů.....	26
3.5.2.2	Limonen.....	27
3.5.2.3	β-karyofylen.....	27
3.5.3	Flavonoidy	27
3.5.3.1	Cannflavin A.....	28
3.5.4	Alkaloidy	28
3.6	Faktory ovlivňující růst, vývoj a tvorbu sekundárních metabolitů	28
3.6.1	Vnitřní faktory	28
3.6.1.1	Fytohormony.....	28
3.6.2	Vnější faktory	29
3.6.2.1	Vliv záření	29
3.6.2.2	Vliv teploty	29
3.6.2.3	Vliv vody	30
3.6.2.4	Vliv vzduchu.....	30
3.6.2.5	Vliv výživy	30
3.6.2.6	Vliv chorob a škůdců.....	30
3.7	Vliv mechanických zásahů do habitu rostliny	31
3.7.1	„Trimming“.....	31
3.7.1.1	Defoliace.....	32
3.7.1.2	BBLR.....	32
3.7.1.3	Odstranění primárních větví	32
3.7.1.4	Odstranění sekundárních větví.....	32
3.7.1.5	„Topping“	32
4	Metodika.....	34
4.1	Základní parametry pěstebního prostoru	34
4.1.1	Systém závlahy	34
4.1.2	Mikroklimatické podmínky	34
4.1.3	Osvětlení	35
4.2	Rostlinný materiál.....	35
4.2.1	Příprava a kultivace	35
4.2.2	Vzorkování, uskladnění a homogenizace	35
4.3	Metody.....	36
4.3.1	Extrakce, identifikace a kvantifikace sekundárních metabolitů	36
4.4	Statistická analýza.....	37
5	Výsledky	38
5.1	Výnos suché hmoty rostlin	38

5.2	Obsah sekundárních metabolitů.....	40
5.2.1	THCA.....	40
5.2.2	CBNA	42
5.2.3	Limonen.....	42
5.2.4	β -karyofylen.....	43
5.2.5	Cannflavin A.....	44
6	Diskuze.....	46
7	Závěr	49
8	Literatura.....	50
9	Seznam obrázků a tabulek	I

1 Úvod

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.) je jednoletá kvetoucí rostlina, jež je provázaná s lidstvem po staletí, a nejen v dnešní době vyvolává ve společnosti vášnivé debaty. Jedná se o rostlinu se širokým spektrem využití v medicíně, průmyslu či energetice a její potenciál není i přes současnou osvětu využit. Hydroponický způsob pěstování především léčebného konopí přináší v České republice možnost, jak dosahovat stabilních výnosů biomasy a vyrovnaných kvalitativních hodnot v průběhu celého roku, což by při tradičním venkovním pěstování v našem podnebí nebylo možné.

Rostliny jsou živé chemické továrny na biosyntézu obrovského množství sekundárních metabolitů, a právě tyto metabolity tvoří základ mnoha komerčních farmaceutických léků, stejně jako bylinných přípravků pocházejících z léčivých rostlin. Mnohé chemické složky v léčivých rostlinách mají vlastnosti, které mohou zlepšit lidské zdraví prostřednictvím farmaceutického a potravinářského průmyslu, své uplatnění však nachází také v agrochemickém, či kosmetickém průmyslu (Hassan 2012). Hodnota konopí v lékařství je připisována především skupině sekundárních metabolitů zvaných kanabinoidy, které jsou koncentrovány převážně v esenciálních olejích neoplozených samičích květů (Potter 2014). Mnoho dalších sekundárních metabolitů, jako jsou alkaloidy, terpenoidy a fenylypropanoidy, je zvažováno pro vývoj léků (Sanchita & Sharma 2018).

Vnitřní kultivace se stala sofistikovanější s běžným využitím automatizovaných systémů osvětlení, ventilace a zavlažování. Kultivaci ve vnitřních podmínkách lze realizovat mnoha způsoby, ale vždy se jedná o dvě základní varianty – kultivaci v půdních substrátech nebo hydroponicky. Živiny se rozpouštějí v závlahové vodě nebo lze použít již vyhnojené půdní substráty. Hydroponie je v současnosti jednou z nejrychleji se rozvíjejících metod v zahradnickém průmyslu (Vanhove et al. 2011).

Význam optimalizace vnitřních systémů se zvýšil kvůli poptávce po maximalizaci výtěžku a zlepšení efektivity pěstebních systémů (Malík et al. 2021). Množství a kvalita květů konopí jsou výrazně proměnlivé a závisí na mnoha faktorech, jako je genotyp (Burgel et al. 2020; Reichel et al. 2021), agronomické postupy, jako jsou zavlažování a hnojení (Bernstein et al 2019) světelné spektrum (Reichel et al. 2021), světelná intenzita (Rodriguez-Morrison et al. 2021) a fotoperioda (Eichhorn Bilodeau et al. 2019); hustota rostlin (Vanhove et al. 2011); environmentální podmínky (vlhkost a teplota) (Chandra et al. 2017a) a vliv biotických a abiotických stresů (Gorelick & Bernstein 2017), včetně technik odstraňování listů (Danziger & Bernstein 2021a), a v neposlední řadě délka vegetativního a generativního období (Crispim Massuela et al 2022).

Tato práce se bude věnovat vlivu odstranění vegetativního vrcholu na množství produkce biomasy, a hlavně na reakci rostlin na tento zásah v podobě množství produkce sekundárních metabolitů.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Hypotéza

S ohledem na fyziologické pochody v rostlinách lze předpokládat, že mechanické zásahy do habitu, zejména vegetačního vrcholu, rostlin léčebného konopí budou mít vliv na množství a produkci sekundárních metabolitů u pozorovaných variant.

2.2 Cíle práce

V diplomové práci bude formou literární rešerše zpracováno téma pěstování léčebného konopí. Především vnitřní a vnější faktory, které ovlivňují jeho růst a tvorbu sekundární metabolitů. Dále bude v experimentální části sledován vliv zásahů do habitu a výživy rostlin léčebného konopí na tvorbu biomasy, výnos a obsah kanabinoidních látek, a to v podmínkách „indoor“ hydroponické pěstírny.

3 Literární rešerše

3.1 Taxonomické zařazení

Mezi odbornou botanickou veřejností pokračuje debata o tom, zda se v případě konopí jedná o jeden druh, tedy *Cannabis sativa* L. s poddruhy a varietami jako je subsp. *sativa*, subsp. *indica* and subsp. *ruderalis*, nebo jestli existují tři samostatné druhy a to: konopí seté (*Cannabis sativa* L.), konopí indické (*Cannabis indica* Lam.) a konopí rumištní (*Cannabis ruderalis* Janisch), kdy obě rozdělní mají své zastánce a jsou přijímány (Landa et al. 2020; Simiyu et al. 2022).

Linné považoval rod za sestávající z jediného nerozděleného druhu, *Cannabis sativa* L. Lamarck (1785) zjistil, že odrůdy konopí z Indie jsou odlišné od běžného konopí v Evropě, a pojmenoval nový druh *C. indica* Lam. Názory na to, zda Lamarck adekvátně odlišil *C. indica* od *C. sativa*, se různí, ale oba jsou platně uznanými druhy. Byly navrženy další druhy konopí, včetně *C. chinensis* Delile a *C. ruderalis* Janisch. Vavilov (1926) považoval *C. ruderalis* za synonymum svého vlastního pojetí *C. sativa* L. var. *spontanea* Vav. Později rozpoznal divoké populace konopí v Afghánistánu jako odlišné od *C. sativa* var. *spontanea* a pojmenoval nový druh *C. indica* Lam. var. *kafiristanica* Vav. (Hillig 2005).

Small & Cronquist (1976) navrhli monotypický přístup ke konopí, který je modifikací konceptů Lamarcka a Vavilova. Redukovali *C. indica* na *C. sativa* L. subsp. *indica* (Lam.) Small a Cronq. a odlišil ji od *C. sativa* L. subsp. *sativa*, především na základě psychokativních účinků a účelu pěstování. Small a Cronquist rozdělily oba poddruhy na „divoké“ a domestikované odrůdy na základě velikosti nažek a dalších vlastností. Tento koncept byl zpochybněn jinými botaniky, kteří pomocí morfologických znaků vymezili tři druhy: *C. indica*, *C. sativa* a *C. ruderalis* (Anderson 1974; Emboden 1974; Andreson 1980; Schultes et al. 1974, Hillig 2005).

Rekreační užívání a léčebné užití konopí se často spojuje s pojmy „sativa“ a „indica“. Tato lidová taxonomie konopí narkotického typu se stala virální. Důležité je však zmínit, že pojmy „sativa“ a „indica“ v uvozovkách nejsou totéž jako *C. sativa* a *C. indica* psané kurzívou, ty jsou botanickou nomenklaturou, zatímco první vychází ze stavů, které mají navozovat. Rostliny "sativa" konopí produkují mnohem více tetrahydrokanabinolu (THC) než kanabidiolu (CBD) a mají terpenoidní profil, jehož vůně je popisována jako bylinková nebo sladká. "sativa" působí stimulačně má povzbuzující a energizující efekt a doporučuje se pro léčbu deprese, bolesti hlavy, nevolnosti a ztráty chuti k jídlu. Rostliny "indica" produkují téměř stejný poměr THC k CBD a mají terpenoidní profil, který dodává kyselou nebo pižmově štiplavou vůni. "indica" navozuje relaxující až sedativní stavy a tlumí bolest. Proto se tyto pojmy staly zdrojem zmatku a nejasností (Erkelens & Hazekamp 2014; Piomelli & Russo 2016; McPartland 2017).

V posledních 40 letech došlo k rozsáhlému křížení mezi výše zmíněnou „sativou“ a „indicou“, které vedlo k tomu, že jejich rozlišování je z pohledu dnešního trhu téměř beze smyslu. Rostliny by měly být identifikovány spíše podle svého chemického složení než podle běžně používaných charakteristik jako „sativa dominantní“, „indica dominantní“, či komerčních názvů jednotlivých odrůd (Hazekamp & Fishedick 2012; Hazekamp et al. 2016). Několik z analytických laboratoří přešlo k identifikaci rostlin podle obsahu kanabinoidů a terpenů, přechod, který se může označit jako „z kultivaru na chemovar“ (McPartland 2017)

Doména: *Eukaryota*
Říše: *Plantae*
Oddělení: *Magnoliophyta*
Třída: *Rosopsida*
Řád: *Rosales*
Čeleď: *Cannabaceae*
Rod: *Cannabis* (Linné, 1753)

Dle polytypického konceptu rozdělení, zmíněného výše, pak konopí rozdělujeme na tři druhy, které blíže charakterizují v další kapitole.

3.2 Botanická charakteristika

Cannabis je rod jednoletých kvetoucích rostlin. Jedná se převážně o dvoudomé rostliny, což znamená, že některé rostliny mají samčí květy a jiné květy samičí. Ojediněle se může jednat o jednodomé rostliny, tedy rostliny, které mají samčí i samičí květy. Jednodomé rostliny vznikly jako přirozená mutace, která byla vybrána pro použití ve šlechtitelských programech (Moliteri et al. 2004). Původ samčí nebo samičí matky rostliny jednodomého typu není znám (Razumova et al. 2016). Co se opylení týče, jedná se o větrosrubné (anemogamní) rostliny (Gloss 2015).

Konopí patří do čeledi *Cannabaceae*. Čeleď *Cannabaceae* zahrnuje rostliny chmele a druh stromu nazývaného anglicky „hackberry“, česky pojmenovaný jako břestovec a samozřejmě konopí. Mezi hlavní podobné znaky mezi členy této čeledi se typicky zahrnují dlanitě zpeřené listy, dvoudomé květy a opylení za pomoci větru (Gloss 2015).

3.2.1 Popis

3.2.1.1 Stonek

Stonky rostliny konopí jsou vzpřímené, často duté, 0,2–6 m vysoké v závislosti na odrůdě a podmínkách pěstování. Samčí rostliny jsou úzké a vysoké. Samičí rostliny jsou mnohem robustnější (Chandra et al. 2017a).

3.2.1.2 Kořen

Rostlina má vřetenovitý kořen sahající běžně do hloubky 30-40 cm, na sušších stanovištích dokonce i hlouběji. Konopí můžeme částečně považovat za aridní rostlinu odolnou vůči suchu (Šnobl 2004).

3.2.1.3 Listy

Listy rostliny jsou na lodyze střídavé nebo vstřícné, dlanitě složené, to znamená, že tvoří lístky paprscitě vyběhající z báze listu, tři až devíti čtené. Jednotlivé lístky jsou obvykle kopinaté, někdy až čárkovité, s nejdelším uprostřed. Listová čepel je naspodu bělavě zelená, s roztroušenými bělavými až neprůhlednými či nahnědlými pryskyřičnými tečkami, zesponu tmavozelená s cystolity. Plochy listové čepele abaxiálně řídce až hustě ochlupené (Gloss 2015; Chandra et al. 2017a).

3.2.1.4 Trichomy

Rostliny konopí jsou na povrchu pokryty malými chloupky, trichomy. Existuje několik různých typů trichomů. Trichomy na samičích rostlinách mají převážně zvláště vysoký obsah

kanabinoidů. Účel trichomů není zcela jasný, ale jedna z funkcí může být, že slouží k lapení hmyzu, který by se pokusil se na rostlině krmít (Gloss 2015).

Téměř všechny nadzemní části rostliny jsou pokryty trichomy, ty pak dělí na dva hlavní typy: (A) glandulární trichomy, tedy žláznaté a (B) neglandulární trichomy, trichomy krycí. Glandulární trichomy jsou primární struktury pro syntézu a skladování kanabinoidů (Raman et al. 2017).

Neglandulární trichomy jsou tradičně známy tím, že působí při fyzické ochraně rostlin před biotickými a abiotickými stresy, tvoří mechanickou bariéru proti nízké vlhkosti, vysoké intenzitě osvětlení a teploty nebo také ochranu před aktivitou hmyzu, jako je krmení či kladení vajíček (Santos Tozin et al. 2016).

Listeny mají nejvyšší koncentraci žláznatých trichomů než kterákoli jiná část samičího květu (Hammond & Mahlberg 1973).

3.2.1.5 Květ a plod

Rozlišení samčích a samičích rostlin od sebe během vegetativního růstu je obtížné, ačkoli samičí rostliny bývají robustnější a kvetou později než samčí rostliny (Chandra et al. 2017a).

Samčí a samičí květy se vyskytují na samostatných rostlinách, avšak jednodomé rostliny se mohou také vyskytnout. Rozdíl mezi samčí a samičí rostlinou je patrný z obrázku 1. Obvyklá doba květu pro mírný podnebný pás je v období července – srpna. Při pěstování je třeba brát ohled na použitou odrůdu, jelikož jejich vlastnosti se liší. Morfologické vlastnosti rostlin konopí jsou ovlivněny odrůdou semen a také faktory prostředí, jako je typ půdy, světlo, voda a živiny (UNODC 2022)

Nažka, suchý nepukavý plod konopí je vejčitého či elipsoidního tvaru. Je asi 4–6 mm dlouhá s 3–4 mm v průměru, hladká, poněkud stlačená. Barva je hnědošedá, skvrnitá. Obsahuje jediné semeno s tvrdou skořápkou (Hayward 1938, UNODC 2022).



Obrázek 1: Popis rostliny. A = květenství samčí rostliny, B = plodící samičí rostlina, 1 = květ s tyčinkami; 2 = tyčinky, 3 = tyčinky, 4 = pylová zrna, 5 = pestík s listenem, 6 = pestík bez listenu, 7 = řez pestíkem, 8 = semeno s listenem, 9 = semeno 10 = semeno ze strany, 11 = příčný řez semenem, 12 = podélný řez semenem, 13 = semeno bez oplodí (Zdroj: UNODC 2022)

3.2.2 *Cannabis sativa* L.

Je nejběžněji se vyskytujícím druhem na v západním světě. Je to vysoká tenkolistá rostlina s vláknitým stonkem, která kvete za určitých světelných podmínek. Kvetení začíná, když tma přesáhne 11 hodin denně. Může dorůst výšky 1,5 – 5,5 metru nebo více a často má několik větví. Poměr kanabinoidů u *C. sativa* je nakloněn k vyššímu zastoupení THC oproti CBD (Gloss 2015; McPartland 2020).

3.2.3 *Cannabis indica* Lam.

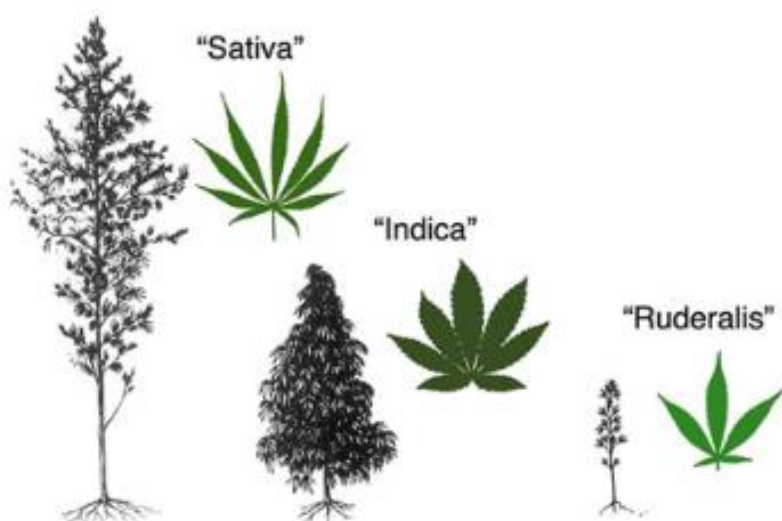
Má širší listy než *C. sativa*. Obvykle se jedná o nižší rostliny s dřevnatým stonkem, více olistěná s větším množstvím květů, což jim dodává keřovitější vzhled. Květenství bývají robustnější. Rostliny obvykle dorůstají do výšky 60–120 cm a jsou kompaktně větvené. *C. indica* má poměr hlavních kanabinoidů nakloněný opačně oproti *C. sativa*, tedy $\text{THC} < \text{CBD}$ (Gloss 2015; McPartland 2020).

3.2.4 *Cannabis ruderalis* Janisch.

Pravděpodobně pochází z jižního Ruska. Obsahuje velmi málo THC, takže se jen zřídka pěstuje v této formě sama o sobě jako plodina učená k dalšímu zpracování. Má vlastnost samonakvétání, květy se tedy objevují spíše v důsledku stáří rostlin nikoliv světelných podmínek. Tato vlastnost je využívána zejména u hybridů, aby hybrid měl samonakvétací vlastnosti. Rostliny jsou menší než *C. sativa* a přizpůsobily se nižším teplotám. Obvykle nedorůstá do výšky více než 60 cm a nevětví se (Gloss 2015). Jedná se o nepůvodní druh, který se v České republice vyskytuje na jižní Moravě (ISOP 2023).

Škodlivost konopí rumištního v porostech kulturních plodin je vysoká hlavně z důvodu vzrůstu a s tím spojeným značným konkurenčním čerpáním živin a vody. Svou zelenou nadzemní biomasou způsobuje zejména v deštivém počasí opožděné zrání plodin, a to dokonce i vzrůstných plodin jako jsou rostliny slunečnice. Ztěžuje práci při sklizni, případně zvyšuje nároky na desikaci chemickým postříkem (Tóth et al. 2015).

Rozdíl v habitu rostlin je patrný z obrázku 2.



Obrázek 2: Vyobrazení druhů konopí dle polytypického konceptu taxonomického rozdělení. Zprava: *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, *Cannabis ruderalis* (Zdroj: McPartland 2018)

3.2.5 Hybridy a odrůdy

Je důležité podotknout, že probíhá hybridizace konopí, tvorba nových odrůd a výběr žádoucích vlastností. Jednou z často volených charakteristik je obsah THC. Mezi lety 2000 a 2004 vzrostl průměrný obsah THC v rostlinách konopí z Nizozemska z 8 % na 20 %. Podobné zvýšení obsahu THC v průběhu času také zaznamenalo nárůst v celosvětovém měřítku, ale ne tak významný jako v Nizozemsku (Gloss 2015).

Téměř veškeré konopí využívané k lékařským a rekreačním účelům, pěstované v USA, Kanadě a Evropě, je hybridní, což vede k tisícům odrůd (McPartland & Guy 2017). Odrůdy mohou být pojmenovány různými způsoby. Některá jména jsou založena na vůni, jiná na původu dané odrůdy. Existuje jen několik pravidel, jak se odrůdy pojmenovávají, ale většina jmen se pravidly neřídí. Existuje pouze několik příkladů, kdy se zdá, že existuje určitá konvence pojmenování. „Kush“ obvykle označuje buď čisté *C. indica* nebo jeho hybrid. „Afghan Kush“, „Hindu Kush“, „Green Kush“ a „Purple Kush“ jsou odrůdy s vysokým zastoupením *C. indica*. Hybridy „Blueberry Kush“ a „Golden Jamaican Kush“ pak také vychází z *C. indica*. Pro *C. sativa* existují podobné příklady používající slova „Diesel“ a „Haze“, přičemž některé

odřůdy jsou nehybridní *C. sativa* a jiné odřůdy jsou hybridy. Pojmenování Diesel pak vychází ze zápachu této odřůdy, který připomíná vůni tohoto paliva (Gloss 2015).

3.3 Význam konopí

Tato rychle rostoucí rostlina nedávno zaznamenala znovuoživení zájmu díky svému mnohočetnému využití. Jedná se o skutečně nenahraditelnou pokladnici fytochemikálií a bohatý zdroj jak celulózových, tak dřevitých vláken. Stejně velký zájem o tuto rostlinu je ve farmaceutickém a stavebním sektoru, protože její metabolity vykazují významné účinky na lidské zdraví a její vnější a vnitřní stonkové tkáně lze použít k výrobě bio plastů a materiálů podobných betonu (Andre et al. 2016).

3.3.1 Léčebné x Technické konopí a legislativa

Od 1.1.2022 vstoupil v účinnost zákon č. 366/2021 Sb., který novelizuje především zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů ve znění pozdějších předpisů, zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech), ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů (Sbírka zákonů 2021).

Došlo zde mimo jiné také k navýšení povolené výše obsahu THC z 0,3 % na 1 %. Tato změna byla argumentována potřebou chránit zemědělce. Ti například vlivem teplejšího počasí sklídí úrodu s vyšším obsahem THC, ačkoliv zasadí odřůdy se standardně nižším obsahem. Představa, že tato úprava byla krokem k legalizaci konopí v České republice, byla tedy mylná. U konopí nově zákon stanovil také výjimku: extrakt a tinktura konopí obsahující méně než 1 % THC se za návykovou látku nepovažují. Tentýž limit (1 % THC) pak byl doplněn do definice technického konopí. (Slavíková 2022).

Zákon pak definuje léčebné konopí jako: „*Konopí pro léčebné použití musí splňovat podmínky stanovené pro jeho použití pro přípravu individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití podle právního předpisu upravujícího podmínky pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití.*“ (Zákony pro lidi 2023).

Rostlinou technického konopí se naproti tomu rozumí „*rostlina z rodu konopí, ze které lze získat konopí s obsahem nejvýše 1 % látek ze skupiny tetrahydrokanabinolů nebo pochází z osiva odrůd uvedených ve Společném katalogu odrůd druhů zemědělských rostlin*“, a technickým konopím „*konopí z rostliny technického konopí*“. Subjekty pěstující konopí pro jiné účely než pro omamné účinky, už nebudou muset dokazovat, že jejich rostliny nepřekračují zákonem stanovený limit THC. Stačí jim pouze dokázat původ použitých semen, tedy že pocházejí z osiv odrůd, které jsou zapsány ve Společném katalogu odrůd druhů zemědělských rostlin, který je sestavován v souladu se zásadami směrnice Rady 2002/53/ES (Ježek 2023).

Při pěstování konopí jak pro léčebné, tak pro technické konopí platí ohlašovací povinnost s následujícím zněním: „*Osoby pěstující rostliny konopí pro léčebné použití podle § 24b jsou povinny předat Státnímu ústavu pro kontrolu léčiv a Ministerstvu zdravotnictví hlášení o množství sklizených rostlin konopí pro léčebné použití vypěstovaných na základě licence a o množství veškerého vyprodukovaného a zneškodněného odpadu z pěstování rostlin konopí pro léčebné použití za uplynulý kalendářní rok do konce února následujícího kalendářního roku. Osoby pěstující rostliny technického konopí na celkové ploše větší než 100 m² jsou povinny předat hlášení místně příslušnému celnímu úřadu podle místa pěstování, písemně nebo v elektronické podobě.*“ Kdy zákon dále upřesňuje další podmínky, za kterých ohlašování probíhá (Zákony pro lidi 2023).

Podle novelizované právní úpravy může pěstovat rostliny konopí pro léčebné použití pouze právnická nebo podnikající fyzická osoba, které byla Státním ústavem pro kontrolu léčiv (dále jen „SÚKL“) udělena licence k pěstování RKLP a která je držitelem povolení k zacházení s návykovými látkami a přípravky vydaného Ministerstvem zdravotnictví (Ježek 2023).

3.3.2 Technické konopí

Ružovič & Špakovská (2015) uvádějí, že technické konopí je alternativní a udržitelnou rostlinou, nabízející potenciální řešení různých environmentálních problémů od čištění půd, vod a vzduchu přes potravinářské, chemické, farmaceutické a energetické využití. Průmyslové využití lze dále rozdělit v závislosti na zpracovávané části rostliny. Běžně se zpracovávají tyto části: kořen, stonek (obsahuje vlákno, pazdeří a zbytkový odpad), list, květ a konopná semena.

Konopná semena slouží jako krmivo pro dobytek a jiná zvířata. Jsou také vhodná pro lidskou konzumaci. Mechanickým lisováním semen za studena je produkován panenský konopný olej. Vedlejším produktem lisování oleje ze semen jsou výlisky. Ty mohou být mechanickým mletím a proséváním zpracovány na další produkty. Příkladem těchto produktů je konopná mouka či prášek bohatý na proteiny. Proteinové rostlinné izoláty momentálně zažívají na trhu velký rozmach kvůli jejich větší udržitelnosti a menším výrobním nákladům oproti produktům živočišného původu (Kaczorová et al. 2020).

Biomasa stonku je výborným zdrojem pro výrobu papíru, biologicky rozložitelných plastů či kompozitních materiálů, textilií a také slouží jako izolační a obkladový materiál. V neposlední řadě slouží pro energetické účely k výrobě pelet a biomasy k topení o výhřevnosti $18,06 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ u celé rostliny. Pazdeří lze pak také uplatnit jako stelivo pro drobné zvířectvo, případně jako zdroj uhlíku a energie při procesu pyrolýzy (Ružovič & Špakovská 2015; Kaczorová et al. 2020).

3.3.3 Léčebné konopí

V České republice je konopí pro léčebné použití indikováno jako podpůrná či doplňková léčba ke zmírnění symptomů doprovázejících závažná onemocnění (SÚKL 2023).

Jedná se o sušené samičí květy rostliny *Cannabis sativa* L. nebo *Cannabis indica* Lam. Konopí pro léčebné použití obsahuje velké množství účinných složek, mezi nejznámější patří THC a CBD. Obsah účinných látek se může dle legislativy pohybovat od 0,3 % do 21 % u THC a od 0,1 % do 19 % u CBD (SÚKL 2023).

Extraktem z konopí pro léčebné použití se myslí extrakt, který je vyroben z konopí pro léčebné použití určeného pro přípravu individuálně připravovaného léčivého přípravku v podmínkách správné výrobní praxe výrobců léčivých látek podle zákona o léčivech (SAKL 2023).

Podle SÚKL (2023) může být konopí, dle aktuálně platné legislativy, předpisováno na onemocnění spojená s následujícími indikacemi, a to pouze lékaři-specialisty. Chronická neutišitelná bolest, spasticita a s ní spojená bolest u roztroušené sklerózy nebo při poranění míchy, nebolestivá úporná spasticita zásadně omezující pohyb nebo dýchání, stimulace apetitu a řešení dalších obtíží spojených s léčbou onkologického onemocnění nebo HIV, Tourettův syndrom a léčba dermatóz a slizničních lézí.

Maximální množství vydaného konopí pro jednoho pacienta na období jednoho měsíce je 180 g (SÚKL 2023).

3.4 Způsob pěstování

Konopí lze efektivně pěstovat v „indoor“ i „outdoor“ podmínkách. Každá z variant pěstování má však své výhody a nevýhody. Ve venkovních podmínkách trvá životní cyklus rostliny pět až sedm měsíců v závislosti na době výsadby a odrůdě, zatímco při pěstování „indoor“ může být kvetení indukováno regulací fotoperiody. Venkovní pěstování je ovlivněno faktory, jako je vítr a déšť, které mohou rostliny konopí během vegetace poničit. Další proměnné prostředí, jako je teplota, světlo, dostupnost vody a hustota výsevu, také ovlivňují růst a vývoj rostlin konopí, což způsobuje rozdíly v množství a kvalitě biomasy (Chandra et al. 2017a).

3.4.1 Venkovní pěstování

Jak již bylo zmíněno, konopí je jednoletá rostlina. Při venkovním pěstování je seta na jaře a z pole je sklizena koncem léta nebo časně na podzim (Densantis et al. 2013).

Hlavní rozdíl mezi průmyslovým a léčebným konopím je v tom, že léčebné konopí se pěstuje technikou sinsemilla, kde se sklízí pouze neoplozené samičí květy s vysokým obsahem THC. V polní produkci je poměr samčích a samičích rostlin dán genetickými faktory, klimatickými a půdními podmínkami. Samičí rostliny proto musí být identifikovány a samčí rostliny se během kultivace musí odstranit (Žuk-Gołaszewska & Gołaszewski 2018).

Konopí se dá pěstovat v oblastech s různou zeměpisnou šířkou, neboť je velmi přizpůsobivé. Rostliny konopí nemají specifické půdní nároky, avšak je třeba zohlednit pH půdy, které je nejdůležitějším z faktorů půdních podmínek pro konopí. To by se mělo blížit neutrální nebo mírně zásadité. Kyselou půdu je třeba před setím vápnit. Pro konopí jsou nejvhodnější úrodné, hluboké dobře zpracovatelné půdy, hlinité a hlinitopísčité s nízkou spodní vodou. Vyžaduje půdy dobře vyhnojené a bohatě zásobené humusem. Nevhodné jsou půdy mělké, kamenité, písčité, ulehlé, jílovité, vysychavé. Konopí je možné pěstovat i na horších půdách a v chladnějších oblastech za předpokladu nižších výnosů. Konopí se řadí mezi plodiny a náročné na vodu a živiny. Živiny ve snadno přístupných formách. Doporučuje se proto vyhnojení půdy organickými i minerálními hnojivy. Potřeba živin závisí na vzrůstnosti odrůdy. Čím je odrůda vzrůstnější, tím náročnější na živiny je. (Kocourková et al. 2014; Carah et al. 2015; Žuk-Gołaszewska & Gołaszewski 2018).

Optimální výsev konopí setého určuje konečnou ekonomickou hodnotu plodiny. Při nedostatečném výsevku plodiny může dojít ke zvýšení konkurence plevelů, k obtížnosti při sklizni spojené se silnými stonky. Naopak nadměrné výsevné množství vede ke zpomalení rychlosti růstu plodin v pozdějších fázích vývoje. Doporučená míra výsevu se pohybuje kolem 20-30 kg ha⁻¹ a optimální hustota rostlin závisí na účelu pěstování, zda se jedná o vlákno nebo semena. Nízká hustota výsevu je vhodná pro zisk semen, zatímco větší hustota je lepší pro vlákno. Vysoký výsev obvykle produkuje kratší rostliny s tenčími stonky a vyšším podílem vlákna. Doporučené optimální množství semen na hektar se pohybuje v rozmezí 1-4 miliony klíčivých semen (MKS.ha⁻¹). Pro výsevy za účelem získání vysokých výnosů semen je doporučována výsevní norma 1 MKS.ha⁻¹, pro sklizeň za účelem sklizně semen a stonku pak 2 MKS.ha⁻¹ a pro účely sklizně pouze stonku pak 4 MKS.ha⁻¹ (Bjelková et al 2017).

Rostliny konopí produkují velké množství nadzemní biomasy, která chrání půdu před nadměrným vysycháním a omezuje růst plevelů. Kořeny konopí se po sklizni rozkládají, kypří půdu a představují bohatý zdroj půdní organické hmoty. Rostliny konopí jsou plodiny šetrné k životnímu prostředí, jelikož nevyžadují výrazné ošetřování pesticidy (Žuk-Gołaszewska & Gołaszewski 2018).

V rotaci polních plodin je několik možností, jak konopí zařadit v závislosti na regionu a potřebách pěstitele. Pěstitelé uvádí, že vhodné je konopí zařadit po cukrové řepě nebo kukuřici, před i po pěstování pšenice a před ječmenem (Densantis et al. 2013).

3.4.2 Pěstování ve vnitřním prostředí

Pěstování v „indoor“ podmínkách (včetně pěstování ve skleníku) umožňuje plnou kontrolu nad všemi aspekty rostlin, jako je světlo a teplota, ale je omezeno vyššími náklady, spotřebou energie a s tím souvisejícími dopady na životní prostředí (Zheng et al. 2021).

Většina produkce konopí pro léčebné nebo výzkumné účely probíhá v kontrolovaných prostředích, jako jsou skleníky a jiná vnitřní zařízení, kde se používají kultivační systémy bez půdy, za použití materiálů je například minerální vlna („rockwool“) a rašelinové substráty, které jsou hnojené (zavlažované roztokem hnojiva) minerálními hnojivy. (UNODC 2006; Farag & Kayser 2015).

3.4.2.1 Hydroponie

Hydroponie je intenzivní forma zemědělství, která přináší základní živiny přímo do kontaktu s rostoucí rostlinou formou vodního roztoku (Roberto 2005).

Hydroponie má mnoho výhod oproti systémům s využitím půdy, včetně vyšších výnosů na rostlinu, potenciálu pro produkci vysoké kvality a možnosti celoročního pěstování v kontrolovaném prostředí. Pěstitelé konopí v průmyslově vyspělých zemích rozpoznali tyto výhody a v posledních letech ve stále větším počtu zavedli hydroponické pěstování plodin (Bouchard & Dion 2009).

3.4.2.2 Akvaponie

Jedním z bezpůdních kultivačních systémů, který si v poslední době získal vědecký a komerční zájem díky své značně snížené ekologické stopě, je akvaponie (Yep & Zheng, 2019). Akvaponie využívá odpadní vody při chovu ryb a přirozeně se vyskytující bakterie (k mineralizaci organických sloučenin) k hnojení rostlin, přičemž současně produkuje rostlinný materiál i ryby, tím výrazně snižuje používání hnojiv a pesticidů (Yep et al. 2020).

3.5 Produkty sekundárního metabolismu

Sekundární metabolismus rostlin hraje důležitou roli v jejich přežití v prostředí. Sekundární metabolity jsou schopny přitahovat opylovače, bránit rostliny před predátory a chorobami, a proto byly využívány pro biofarmaceutické účely. Sekundární metabolity jsou také přítomny ve velkém množství v rostlinách používaných v potravinářství a jim propůjčují jim chuť, barvu a vůni. Navíc četné rostlinné sekundární metabolity, jako jsou alkaloidy, antokyany, flavonoidy, chinony, lignany, steroidy a terpenoidy našly komerční využití, jmenovitě jako léčiva, barviva, vůně a insekticidy (Verpoorte et al 2002).

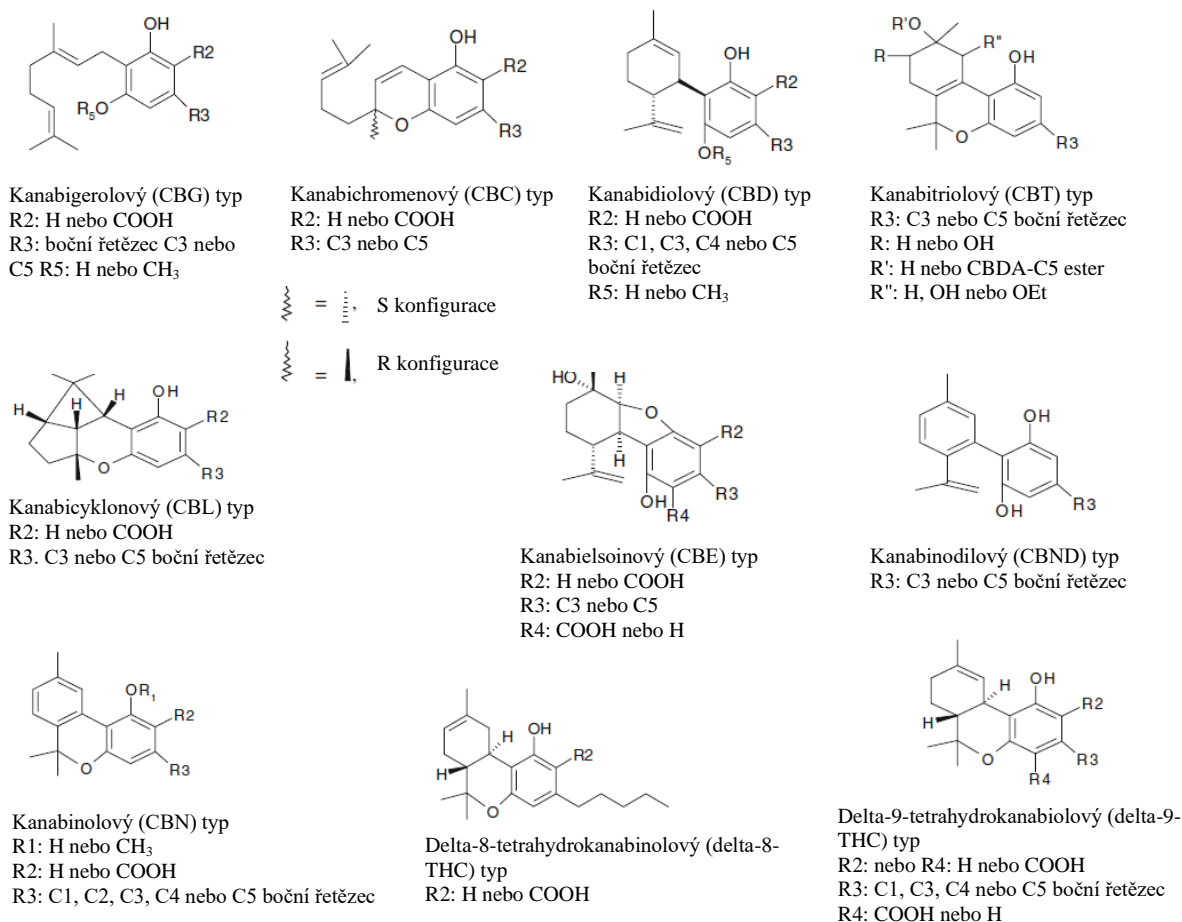
Konopí je komplexní rostlinné léčivo obsahující několik tříd sekundárních metabolitů, včetně nejméně 104 kanabinoidů, 120 terpenoidů (včetně 61 monoterpenů, 52 seskviterpenoidů a 5 triterpenoidů), 26 flavonoidů a 11 steroidů mezi 545 zatím identifikovanými sloučeninami (Jin et al. 2020).

3.5.1 Kanabinoidy

Kanabinoidy (také nazývané fytoKANABINOIDY) jsou skupinou sekundárních rostlinných metabolitů s typickou strukturou, které doposud nebyly popsány v jiných rostlinách. Jejich

biosyntéza je enzymaticky kontrolována, což způsobuje jako u jiných biologicky aktivních rostlinných metabolitů tvorbu stereogenních center a specifických strukturálních znaků, které jsou významné z pohledu biologické aktivity (Peč 2013).

Tato skupina představuje nejvíce studované sloučeniny obsažené v konopí. Z hlediska chemické struktury se jedná o terpenofenolové sloučeniny s 22 uhlíky (nebo 21 uhlíky pro neutrální formu). Kanabinoidy, kterých identifikováno přes 100, se dělí do deseti podtříd, podle strukturálního typu. Jsou to kanabigerolové (CBG), kanabichromenové (CBC), kanabidiolové (CBD), kanabitrilové (CBT), kanabicyklované (CBL), kanabielsoinové (CBE), kanabinolové (CBN), kanabinodiolové (CBND), delta-8-tetrahydrokanabinolové, (delta-8-THC) a delta-9-tetrahydrokanabinol (delta-9-THC). Jejich struktura je vyobrazena na obrázku č. 3. Všechny ostatní sloučeniny, které nezapadají do hlavních typů, jsou seskupeny do skupiny označované jako různé (Flores-Sanchez & Verpoorte 2008; Gonçalves et al 2019).



Obrázek 3: Struktura deseti hlavních podtříd kannabinoidů v rostlinách konopí. (Zdroj: Flores-Sanchez & Verpoorte 2008)

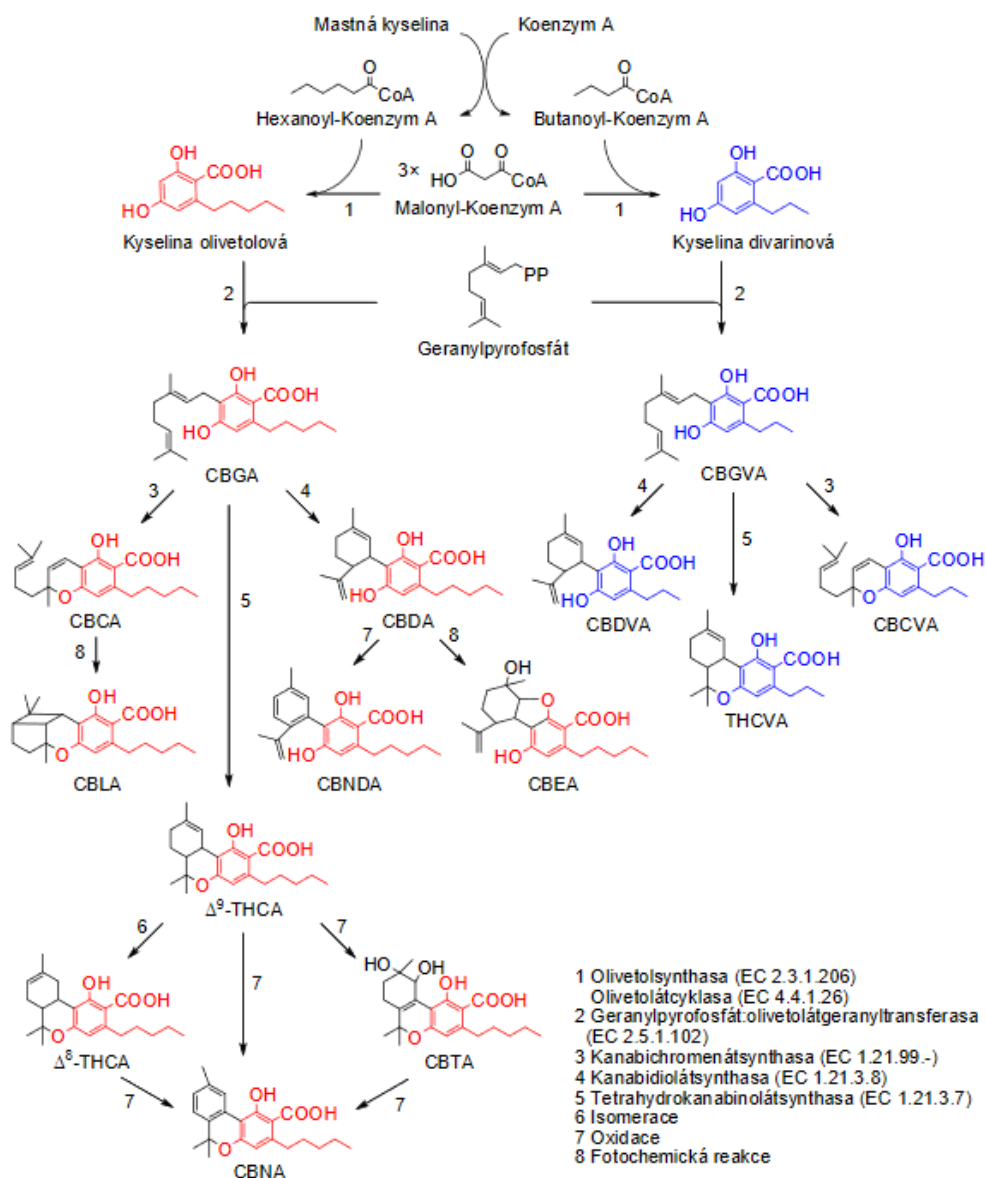
Andre et al. (2016) uvádí že, nejhojněji zastoupené sloučeniny nalezené v konopí jak léčebného, tak technického typu jsou následující kanabinoidy. Převládajícími sloučeninami jsou THCA, CBDA dále kannabinolová kyselina (CBNA), následovaná kanabigerolovou kyselinou (CBGA), kanabichromenovou kyselinou (CBCA) a kanabinodiolovou kyselinou (CBNDA).

3.5.1.1 Biosyntéza kanabinoidů

V rostlinách rodu *Cannabis* se kanabinoidy syntetizují a akumulují jako kanabinoidní kyseliny [např. kanabidiolová kyselina (CBDA)]. Když se rostlinný produkt suší, skladuje, zahřívá nebo je vystaven slunečnímu svitu, kyseliny se postupně nebo úplně dekarboxylují do neutrálních forem (např. CBDA → CBD) (de Meijer et al. 2003).

V čerstvých rostlinách se kanabinoidy v neutrálních formách téměř nenacházejí. Ostatní kanabinoidy jsou produktem neenzymových reakcí a degradace kyselých i neutrálních kanabinoidů, převážně oxidací a působením UV záření (Aizpurua-Olaizola et al. 2016; Kaczorová et al. 2020).

Kaczorová et al. (2020) popisuje syntézu následovně. Kanabinoidy jsou produkovány nejvíce ve žláznatých trichomech samičích rostlin, jak bylo zmíněno v dřívější kapitole a jejich biosyntetickým prekurzorem je hexanoyl-koenzym A. Tento proces je zobrazený na obrázku 4. Polyketidovou dráhou vzniká z alifatických prekurzorů, které jsou aktivované, olivetolová kyselina za účasti dvou enzymů: olivetolsynthasy a olivetolátcyklasy. Reakce olivetolové kyseliny s geranyldifosfátem dává vzniknout kanabigerolové kyselině, tato reakce je katalyzována geranylpyrofosfát: olivetolátgeranyltransferázou. Výchozí látkou pro syntézu tetrahydrokanabinolové kyseliny (THCA), kanabidiolové (CBDA) kanabichromenové (CBCA) je kanabigerolová kyselina. Takto vznikají kanabinoidy s pentylovým postranním řetězcem. Kanabinoidy s propylovým řetězcem jsou syntetizovány z jiné výchozí látky, z kanabigerovarínové kyseliny (CBGVA), prekurzorem, které je divarinová kyselina. Enzymy syntáza Tetrahydrokanabinolové kyseliny, syntáza kanabiové kyseliny a syntáza kanabichromenové kyseliny nejsou selektivní vůči délce postranního řetězce, tudíž jejich substráty mohou být CBGA i CBGVA. Z CBGVA jsou poté syntetizovány kanabidivarínová kyselina (CBDVA), kanabichromevarínová (CBCVA) a tetrahydrokanabivarínová (THCVA).



Obrázek 4: Schéma biosyntézy kanabinoidů v rostlinách konopí. CBGA = kanabigerolová kyselina, CBCA = kanabichromenová kyselina, CBD = kanabidiolová kyselina, delta-9-THCA = delta-9-tetrahydrokanabinolová kyselina, delta-8-THCA = delta-8-tetrahydrokanabinolová kyselina, CBNA = kanabinolová kyselina, CBTA = kanabitriolová kyselina, CBNDA = kanabinodiolová kyselina, CBLA = kanabicyklolová kyselina, CBEA = kanabielsoová kyselina, CBGVA = kanabigerovarínová kyselina, CBCVA = kanabichromevarínová kyselina, CBDVA = kanabidivarínová kyselina, THCVA = tetrahydrokanabivarínová kyselina. (Zdroj: Kaczorová et al 2020)

3.5.1.2 Tetrahydrokanabinol – THC

THC je hlavní psychoaktivní složka v konopí. Objevují se důkazy podporující roli endokanabinoidního systému v široké škále fyziologických a patofyziologických procesů. THC má širokou škálu biologických účinků napodobováním endogenních látek, tj. endokanabinoidů, anandamidu a 2-arachidonoylglycerolu, které aktivují specifické kanabinoidní receptory (CB₁, zvláště hojný v centrálním a periferním nervovém systému, a CB₂, exprimovaný hlavně

v imunitním systému). V důsledku toho konopí a jeho deriváty slibují téměř nekonečnou škálu léčebných terapií a jejich využití již bylo zmíněno v kapitole 3.3.3. (Costa 2007).

3.5.1.3 Kanabidiol – CBD

CBD je jednou z nejzajímavějších hlavních složek v konopí. Jeho struktura byla objasněna v roce 1963. Nestimuluje CB1 a na rozdíl od THC nemá žádné psychoaktivní vlastnosti. Paradoxně bylo CBD dlouho považováno za metabolit bez významné biologické aktivity i přes zmínky v literatuře o jeho potenciálních přínosech při léčbě epileptických záchvatů. Následně četné preklinické zprávy prokázaly ochranné a protizánětlivé účinky CBD při léčbě a prevenci neurodegenerace/neurozánětu, mrtvice (Hayakawa et al. 2008), kolitidy (Borrelli et al. 2009), poškození jater (Mukhopadhyay et al. 2011; Silvestri et al. 2015), ledvin (Fouad et al. 2012), kardiovaskulárních onemocnění [kardiomyopatie (Rajesh et al. 2010), myokarditida (Lee et al. 2016) a infarkt myokardu (Durst et al. 2007)], artritidy (Malfait et al. 2000), sepse (Cassol et al. 2010), diabetu (Weiss et al. 2008), komplikace reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) (Yeshurun et al. 2015), rakoviny (Ligresti et al. 2006) a epilepsie (Cunha et al. 1980) (Pacher et al. 2020).

3.5.1.4 Kanabinol – CBN

Je kanabinoid izolovaný z rostliny *Cannabis*, který je oxidačním produktem THC, s potenciálními imunosupresivními a protizánětlivými účinky. Kanabinol se přednostně váže na kanabinoidní receptor spřažený s G-proteinem CB₂, který je exprimován hlavně na imunitních buňkách, jako jsou T – lymfocyty, B – lymfocyty, makrofágy a dendritické buňky. Stimulace CB₂ receptorů kanabinolem může, jak vyvolat apoptózu v těchto buňkách, tak inhibovat produkci různých cytokinů. Kanabinol vykazuje minimální afinitu k CB₁ a má slabý účinek na centrální nervový systém (NCI Thesaurus 2023).

CBN je jen mírně psychoaktivní, ale to, že tento kanabinoid není příliš psychoaktivní, však neznamená, že není účinný. Ve skutečnosti je CBN nejsilnější kanabinoid identifikovaný pro podporu spánku, díky čemuž je konopí bohaté na CBN ideální léčbou nespavosti (Colbert 2014a).

3.5.1.5 Kanabigerol – CBG

Kabigerol (CBG) slouží jako prekurzorová molekula pro nejhojnější fytokanabinoidy. CBG vykazuje charakteristiky afinity a aktivity na kanabinoidních receptorech na rozmezí mezi THC a CBD. Studie naznačují, že CBG může mít terapeutický potenciál při léčbě neurologických poruch jako je Huntingtonova choroba (Díaz-Alonso et al., 2016), Parkinsonova choroba (García et al. 2018) a roztroušená skleróza (Granja et al., 2012), a při léčbě zánětlivých střevních onemocnění (De Petrocellis et al. 2011) v neposlední řadě má také antibakteriální účinky. Díky těmto vlastnostem roste zájem o komerční využití tohoto neregulovaného fytokanabinoidu (Nachnani et al. 2020).

Bylo prokázáno, že stimuluje růst nových mozkových buněk v procesu zvaném neurogeneze. Neurogenní sloučeniny jsou extrémně vzácné, což činí CBG velmi cenným předmětem pro další výzkum. Nelze opomenout protinádorové účinky CBG a jeho efekt při napomáhání od nespavosti (Colbert 2014b).

3.5.1.6 Kanabichromen – CBC

Kanabichromen je málo probádaný nepsychoaktivní kanabinoid, který je v poslední době předmětem mnohem většího zkoumání. Stejně jako u THCA a CBDA, vychází biosyntéza CBCA z CBGA (Colbert 2014c).

CBC je fotochemicky nestabilní, snadno podléhá degradaci UV zářením na kanabicyklol (CBL) (Crombie et al. 1968).

Předpokládá se, že CBC má antiproliferativní účinky, což by se dalo vykládat také tak, že potenciálně může inhibovat růst rakovinných buněk. To by mohlo být výsledkem jeho interakce s anandamidem. Anandamid je endokanabinoid, což znamená, že ho naše tělo produkuje přirozeně. Ovlivňuje receptory CB₁ i receptory CB₂ a CBC inhibuje vstřebávání anandamidu, což mu umožňuje zůstat v krevním oběhu déle. (De Petrocellis et al. 1998; Dorm 2023).

Kanabinoid CBC prokázal protizánětlivé účinky a sníženou hypermobilitu ve střevě. CBC má také mírné analgetické vlastnosti prokázané na zkouškách u hlodavců (Izzo et al. 2012), stejně jako antifungální, antibakteriální (Turner & Elsohly 1981), a antiproliferativní účinky zmíněné výše a v neposlední řadě proapoptotické účinky v nádorových buňkách (Zagožen et al. 2021).

3.5.1.7 Kanabinodiol – CBND

Je to plně aromatizovaný derivát kanabidiolu (CBD) a může se vyskytovat jako produkt fotochemické přeměny kanabinolu (CBN) (Elsohly & Slade 2005).

3.5.1.8 Chemotypy

Na základě zastoupení kanabinoidů, převážně THC a CBD, můžeme konopí dělit na čtyři chemotypy. Nejprve byly identifikovány tři chemotypy: Chemotyp I, s vysokým obsahem THC; chemotyp II, kde převažuje obsah CBD, avšak THC se zde vyskytuje v různých koncentracích; chemotyp III, který obsahuje CBD a nízký obsah THC; později byl identifikován také chemotyp IV, který je charakterizován nízkým obsahem THC i CBD a s CBG jakožto převládající složkou (de Meijer et al. 2003).

3.5.2 Terpeny a terpenoidy

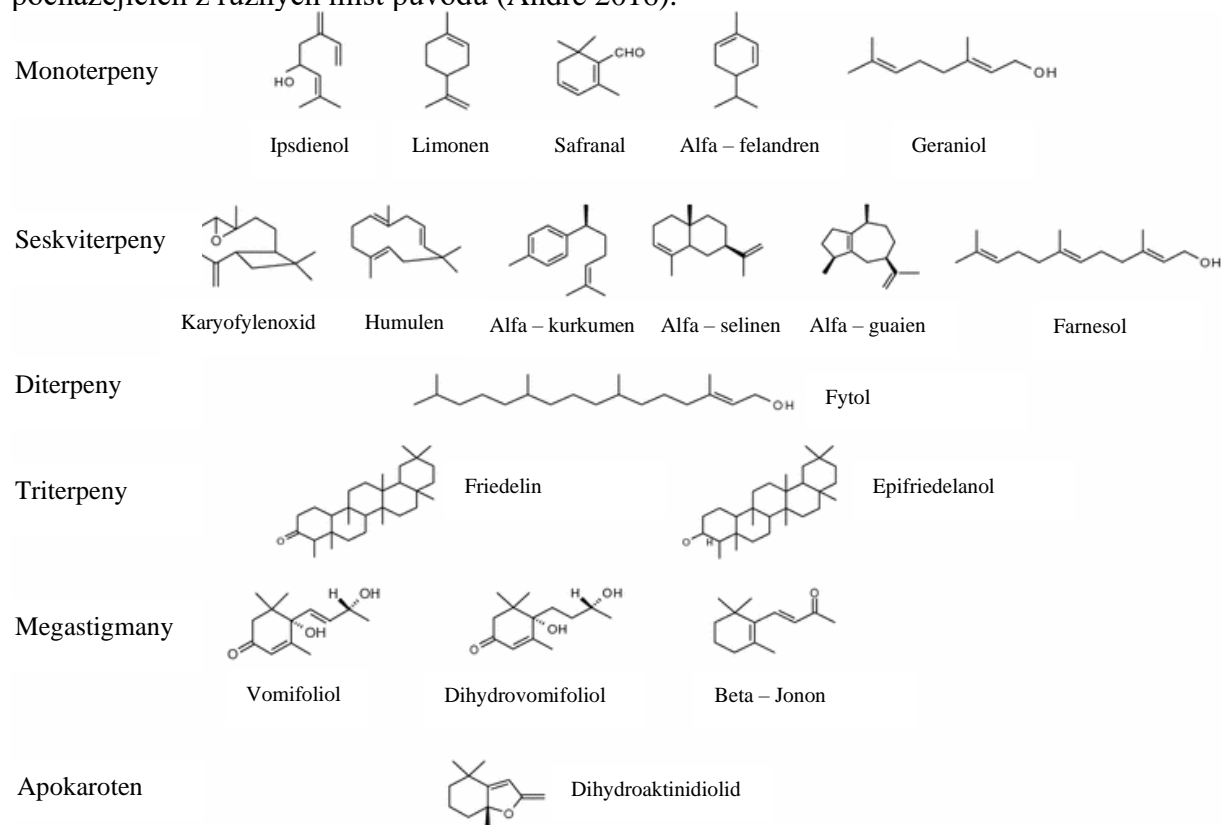
Terpeny tvoří největší skupinu fytochemikálií obsažených v konopí. Většina terpenů v rostlinách konopí se nachází ve žláznatých trichomech a jejich funkce jsou různorodé (Eichhorn Bilodeau et al. 2019).

Terpeny jsou jednoduché uhlovodíky, zatímco terpenoidy (které jsou také známy jako isoprenoidy) jsou terpeny s kyslíkovým zbytkem a dalšími strukturálními představami. Nicméně, tyto dva termíny jsou používány zaměnitelně. Terpenoidy jsou klasifikovány na základě počtu atomů uhlíku, které obsahují: hemiterpenoidy složené z jedné izoprenové jednotky (C₅), monoterpenoidy (C₁₀), homoterpenoidy (C₁₁, C₁₆), seskviterpenoidy (C₁₅), diterpenoidy (C₂₀), sesterpenoidy (C₂₅), triterpenoidy (C₃₀), tetraterpenoidy (C₄₀) a polyterpenoidy (C_{>40}, terpenoidy vyššího řádu) a některé terpeny, rozdělené podle skupin, obsažené v konopí jsou zobrazeny na obrázku č. 5 (Boncan et al. 2020).

Typická vůně konopí je výsledkem kombinace asi 140 různých terpenoidů. Pravděpodobně proto přispěly k selekci narkotických odrůd konopí v rámci domestikace lidskou populací v průběhu let. Mezi další funkce lze zařadit ochranu před biotickými stresy a jejich působení jako rostlinných hormonů, které regulují růst. Některé terpeny navíc pomáhají

roślinám zvládat stres způsobený světelnými podmínkami a suchem (Brenneisen 2007; Andre 2016; Eichhorn Bilodeau et al. 2019).

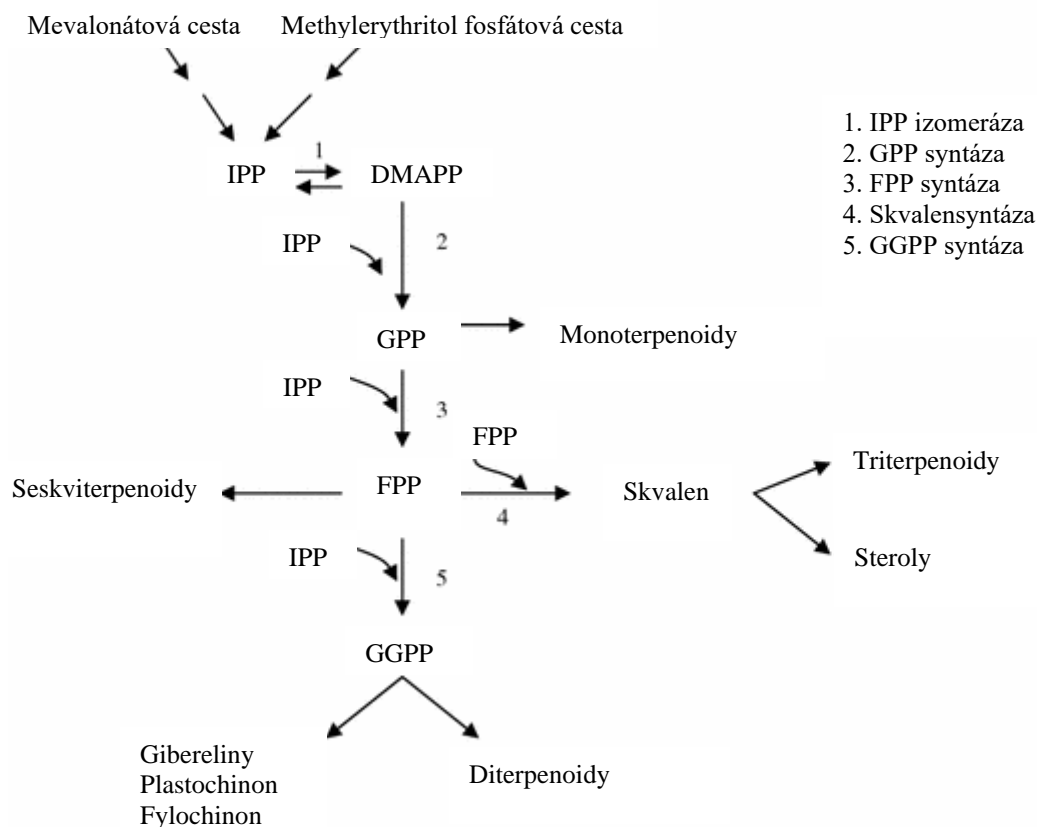
Při pěstování ve standardizovaných podmínkách byla zjištěna významná a pozitivní korelace mezi hladinou terpenů a kanabinoidů. To lze vysvětlit skutečností, že mono- a seskviterpeny jsou syntetizovány ve stejných glandulárních trichomech, ve kterých jsou produkovány kanabinoidy. Tato asociace však nebyla potvrzena na větším panelu vzorků pocházejících z různých míst původu (Andre 2016).



Obrázek 5: Příklady izolovaných terpenů v konopí (Zdroj: Flores-Sanchez & Verpoorte 2008)

3.5.2.1 Syntéza terpenů

Izoprenoidní dráha byla rozsáhle studována u rostlin (Bouvier et al. 2005). Terpenoidy jsou odvozeny z mevalonátové (MVA) cesty, která je aktivní v cytosolu, nebo z cesty plastidové lokalizované, methylerythritol fosfátové (MEP). Obě cesty tvoří isopentenylidifosfát (IPP) a jeho allylový izomer dimethylallyldifosfát (DMAPP). Kondenzační reakce prenyltransferáz produkují řadu prenyldifosfátů. Obecně se má za to, že dráha MVA poskytuje prekurzory pro syntézu seskviterpenoidů, triterpenoidů, steroidů a dalších; zatímco dráha MEP dodává prekurzory pro monoterpenoidy, diterpenoidy, karotenoidy a další. Schéma syntézy je vyobrazeno na obrázku 6. O regulaci obou drah v rostlinných buňkách a o tom, které transkripční faktory je řídí, se však ví málo (Flores-Sanchez & Verpoorte 2008).



Obrázek 6: Schéma syntézy terpenů v rostlinách konopí. IPP = isopentenylidifosfát, GPP = Geranylpyrofosfát, FPP = Farnesylpyrofosfát, GGPP = Geranylgeranylpyrofosfát, Skvalen (Zdroj: Flores-Sanchez & Verpoorte 2008)

3.5.2.2 Limonen

Limonen je jedním z nejčastěji se vyskytujících terpenů v přírodě a je hlavní složkou mnoha éterických olejů rostlin rodu *Citrus*. Limonen je bezbarvá kapalina s příjemnou vůní po citrusech, což ho činí široce používaným jako přídatek do potravin pro vůni a chuť. Po orálním podání je limonen rychle vstřebán v trávicím traktu, distribuován a metabolizován. Limonen je považován za bezpečný a má nízkou toxicitu pro člověka, aniž by vyvolával mutagenní, karcinogenní nebo nefrotoxická rizika pro člověka. (Sun 2007; Vieira et al. 2018)

3.5.2.3 β -karyofylen

β -karyofylen je hlavním seskviterpenem často se vyskytující v rostlinách, kde přispívá k jejich chuti, jedná se například o pepř, hřebíčku, chmel, rozmarýn a konopí. β -karyofylen je známý tím, že se selektivně váže na receptor CB2; proto je někdy také klasifikován jako atypický kanabinoid a je ukazuje se jeho účinnost při snižování neuropatické bolesti. (Gertsch et al. 2008; Gertsch et al. 2010).

3.5.3 Flavonoidy

Flavonoidy jsou všudypřítomné a mají mnoho funkcí v biochemii, fyziologii a ekologii rostlin a jsou důležité pro výživu a zdraví lidí i zvířat. V konopí bylo popsáno více než 20 flavonoidů představujících 7 chemických struktur, které mohou být glykosylovány, prenylovány nebo metylovány (Flores-Sanchez & Verpoorte 2008)

Odhaduje se, že až 10 % rostlinných sloučenin konopí jsou flavonoidy, přičemž až téměř 3 % hmotnosti v sušených listech a květech. Seznam flavonoidů v konopí závisí na tom, které odrůdy jsou zkoumány, a na barvě rostlin (Atkins 2020).

Flavonoidy v konopí jsou antioxidanty, barviva a látky chránící rostliny. Tyto sloučeniny nejsou psychoaktivní, ale mohou hrát roli v některých vedlejších účincích, kdy flavonoidy přítomné v konopí působí synergicky s jinými sloučeninami, jako jsou kanabinoidy a terpeny, a vytvářejí antioxidační, antidepresivní, protizánětlivé vlastnosti (Atkins 2020).

3.5.3.1 Cannflavin A

Cannflavin A patří do třídy rostlinných flavonoidů známých jako flavony. Cannflavin A je jedním z několika flavonoidů, které byly identifikovány v rostlině *Cannabis sativa* L. Cannflaviny obecně vykazují protizánětlivou aktivitu jeho účinky jsou však nadále zkoumány (Rea et al. 2019; Erridge et al. 2020).

3.5.4 Alkaloidy

Alkaloidy jsou další hlavní skupinou sekundárních metabolitů v rostlinách. Alkaloidy jsou zásadité, dusíkaté sloučeniny obvykle s biologickou aktivitou v nízkých dávkách a mohou být odvozeny od aminokyselin. V konopí bylo identifikováno 10 alkaloidů. Neurín, L-(+)-isoleucin-betain a muskarin jsou protoalkaloidy. Hordenin je alkaloid ze třídy fenethylaminu a trigonellin je pyridinový alkaloid. Cannabissativin a anhydrocannabissativin jsou polyaminy odvozené od spermidinu. Piperidin a pyrrolidin byly také identifikovány v konopí. Tyto alkaloidy byly izolovány a identifikovány z kořenů, listů, stonků, pylu a semen (Flores-Sanchez & Verpoorte 2008).

3.6 Faktory ovlivňující růst, vývoj a tvorbu sekundárních metabolitů

Chemické složení rostlin ovlivňuje mnoho vnitřních i vnějších faktorů a je obtížné definovat, který faktor měl vliv na konkrétní změny chemických sloučenin (Radušienė et al. 2012).

Jedním z důvodů, proč tyto faktory mění chemické složení rostlin, je stresová reakce. Když je rostlina vystavena stresorům, které však mohou působit také jako elicitory, jsou indukovány enzymatické dráhy, které mění obsah bioaktivních sekundárních metabolitů (Gorelick & Bernstein 2017).

3.6.1 Vnitřní faktory

3.6.1.1 Fytohormony

Přirozeně se vyskytují v rostlinách a v nízkých koncentracích působí jako signální sloučeniny. První objevené a nejlépe pochopené fytohormony jsou auxiny a cytokininy (CK), které jsou podle své hlavní funkce klasifikovány jako růstové promotory. Auxiny syntetizované ve vrcholu výhonu v mladých listech a transportované bazipetálně ke kořenům, mají klíčovou roli v udržování apikální dominance, stejně jako zodpovědnost za prodlužování buněk. Mezi jejich hlavní účinky patří zakořenění, stimulace a inhibice růstu axilárních pupenů. CK se podílejí na regulaci meristémové aktivity, určování tvaru rostliny, přizpůsobení rostliny vedlejším podmínkám a reakcích na prostředí. Auxiny a CK působí buď antagonisticky, nebo synergicky při řízení vývojových procesů, jako je tvorba a udržování meristému (Burgel 2020).

Jako další fytohormony uvádí Hejnák et al (2008) gibereliny (GA), které působí také jako stimulanty, kyselinu abscisovou (ABA), která způsobuje v rostlinách inhibiční vlivy, stejně tak jako poslední z nejvýznamnějších fytohormonů ethylen.

ABA hraje ústřední roli v reakcích rostlin na několik stresů. Ovlivňuje biosyntézu několika rozpuštěných látek a sekundárních metabolitů. V konopí vyvolávala ABA protichůdné reakce. Ve vegetativních rostlinách ABA snižovala obsah THC a CBD a také obsah fytosterolů. U kvetoucích samičích rostlin však ABA obsah THC zvýšila (Gorelick & Bernstein 2017).

3.6.2 Vnější faktory

3.6.2.1 Vliv záření

Pro rostliny je záření zdrojem energie pro fotosyntézu. Dále ovlivňuje růstové, vývojové a pohybové procesy v rostlině, a to svojí kvantitativní (intenzitou) a kvalitativní složkou (spektrálním složením) spolu s periodicitou (střídáním světla a tmy) (Hejnák et al. 2008).

Fotosynteticky aktivní záření (FAR) se pohybuje v rozmezí 400–700 nm. Za nejvlivnější vlnové délky jsou konvenčně považovány červené (600-700 nm) a modré (420-450 nm) složky spektra, což jsou maximální absorpční rozsahy pro chlorofyly a a b. (Danziger & Bernstein 2021b).

Vzhledem k tomu, že konopí je rostlina krátkého dne, musí dodávané světlo uspokojit požadavky na fotosyntetickou energii a také spektrum potřebné ke spuštění fotoperiodických a fotomorfogenetických reakcí. V současné době se v pěstitelských systémech a v konopném průmyslu používá několik typů světla, i přestože je k dispozici velmi málo vědecky podložených informací o reakci konopí na světelné spektrum pro řízení optimálních přesných zemědělských postupů (Danziger & Bernstein 2021b).

Podle výsledků Danziger & Bernsteina (2021b) světelné spektrum ovlivnilo téměř všechny testované atributy jejich studie, včetně morfologických, fyziologických a chemických parametrů. Výsledky naznačují, že je možné změnit kanabinoidní profil v konopí pomocí manipulace se světelným spektrem, a naznačují souhru genetiky a kvality světla jako slibnou cestu pro přizpůsobení bioaktivního profilu ve prospěch pacientů i pěstitelů.

Další složkou záření je UV – Ultrafialové záření. Zvýšené UV záření má účinky na vývoj rostlin, morfologii a fyziologii. Nejběžnějším ochranným mechanismem proti potenciálně škodlivému ozáření je biosyntéza sloučenin absorbujících UV záření. Tyto sekundární metabolity, zejména fenolické sloučeniny, flavonoidy, antokyany a estery hydroxyskořicové kyseliny, se dobře hromadí v rostlinných buňkách a snižují pronikání UV-B záření do hlubších buněčných vrstev. Dá se tedy očekávat, že i v konopí UV záření stimuluje tvorbu sekundárních metabolitů. Zvýšení ozáření zvyšuje celkovou koncentraci THC v rostlinách. Vzhledem k tomu, že se účastní mnoho vzájemně souvisejících faktorů, včetně sucha a tepelného stresu, je obtížné určit konkrétní roli UV záření v biosyntéze kanabinoidů (Gorelick & Bernstein 2017).

3.6.2.2 Vliv teploty

Ačkoli tepelný stres může výrazně snížit růst rostlin a vyvolat stárnutí, zvýšené teploty (tepelný stres) nebo nízké teploty (stres z chladu) také prokazatelně zvyšují produkci sekundárních metabolitů. U konopí existují určité důkazy, že teplota může hrát roli v biosyntéze kanabinoidů. Těch několik studií, které existují, si však poněkud odporuje. Je pravděpodobné, že reakce na teplotní stres je složitější a zahrnuje více faktorů. Ve skutečnosti specifické odrůdy reagovaly na tepelný stres odlišně. Než dojde k využití tepelného stresu jako elicitoru pro konopí, je třeba lépe porozumět genetickému a environmentálnímu kontextu (Gorelick & Bernstein 2017).

3.6.2.3 Vliv vody

Ve své práci Caplan et al. (2019) uvádí, že stres způsobený suchem je hlavním stimulatorem sekundárních metabolitů v rostlinách. Použití řízeného sucha podstatně zvýšilo koncentrace obou hlavních kanabinoidů, THCA a CBDA, a také výtěžek THCA, CBDA, THC a CBD ve srovnání s kontrolou. Tyto výsledky naznačují, že úroveň aplikovaného stresu ze sucha byla adekvátní ke stimulaci produkce kanabinoidů bez snížení suché hmotnosti květenství pro použitou odrůdu.

Zvýšení koncentrace sekundárních metabolitů v důsledku stresu ze sucha se obvykle shoduje se sníženým růstem, nicméně ochranné mechanismy pomáhají rostlinám tolerovat sucho, dokud není překročen nějaký kumulativní fyziologický práh, a teprve v tomto okamžiku je růst zpomalen (Caplan et al. 2019).

3.6.2.4 Vliv vzduchu

Navzdory nedostatku výzkumu hodnotícího vliv suplementace CO₂ na produktivitu kanabinoidů je to relevantní problematika, jelikož výnos a růst rostlin vždy odrážejí souhrn mezi různými, některými již jmenovanými, faktory, jako je světlo, teplota, živiny a koncentrace CO₂. Vysoká koncentrace CO₂ zvyšuje čistou asimilaci CO₂ a urychluje růst rostlin s potenciálem zvýšit výnos (Chandra et al. 2008; Hawley et al. 2018)

3.6.2.5 Vliv výživy

Jedním z nejdůležitějších faktorů, které ovlivňují růst, vývoj a funkci rostlin, je minerální výživa. Makro a mikroživiny hrají významnou roli ve všech aspektech metabolismu rostlin a jejich dostupnost v dostatečném množství je nezbytná pro optimální fyziologický výkon. Doplnění živin, a zejména makroživin N, P a K, se proto běžně využívá k usnadnění optimálního vývoje a funkce rostlin. U léčivé rostliny, jako je konopí, by měla optimalizace výživy zohledňovat i účinky na sekundární metabolismus. Vliv výživy rostlin na tvorbu sekundárních metabolitů je méně objasněný, avšak některé účinky výživy rostlin na jejich biosyntézu však již byly v minulosti popsány (Gershenzon 1984; Bernstein et al 2019).

Bylo zjištěno, že dostupnost N, P a K ovlivňuje biosyntézu a akumulaci sekundárních metabolitů v rostlinách. Růst konopí, výnos vláken, a koncentrace THC jsou v pozitivní korelaci s přijatelným P. Konopí využívá více fosforu v období květu než během vegetativní fáze (Coffman & Gentner, 1977; Bjelková et al 2017).

Saloner & Bernstein (2021) uvádí, že vysoký přísun dusíku má nepříznivé účinky na produkci sekundárních metabolitů v konopí, zároveň však podporuje růst a produkci biomasy. Zásobování dusíkem tedy může sloužit k regulaci kanabinoidních a terpenoidních profilů nebo ke zvýšení výnosu rostlin podle požadavků na směr pěstování.

3.6.2.6 Vliv chorob a škůdců

Bakteriální i houbové patogeny jsou považovány za faktory, které mohou modulovat biosyntézu kanabinoidů v konopí. První podporou pro toto je možná antimikrobiální aktivita připisovaná kanabinoidům. Následně byly analyzovány jednotlivé kanabinoidy, které odhalily, že řada kanabinoidů jsou silná antibiotika (Gorelick & Bernstein 2017)

Konopí je také spojováno s antifungálními vlastnostmi. Velká část této aktivity může být způsobena řadou těkavých terpenoidů, které jsou známé svou antifungální aktivitou (Wanas et al. 2016; Gorelick & Bernstein 2017).

Poranění, konkrétněji poranění způsobené krmicím se hmyzem, může ovlivnit obsah kanabinoidů v konopí. Tato úvaha se zakládá na důkazech o úloze kanabinoidů jako insekticidů

nebo odpuzovače hmyzu. Je také pravděpodobné, že kanabinoidy mohou působit jako fyzická bariéra proti hmyzu, který může protrhnout žláznaté trichomy, ve kterých jsou uloženy. Kromě kanabinoidů produkuje konopí velké množství různých terpenů, o nichž je známo, že některé mají insekticidní aktivitu (Ledbetter & Krikorian 1975; Mithöfer & Boland 2012; Gorelick & Bernstein 2017).

Autoři ovšem uvádí, že veškeré tyto vlivy musí být potvrzeny dalšími studiemi, jelikož se jedná o málo prozkoumanou problematiku.

3.7 Vliv mechanických zásahů do habitu rostliny

Rostlinné orgány vnímají své prostředí lokálně, gradienty mikroklimat v rostlinném výhonku mohou vyvolat prostorovou variabilitu ve fyziologickém stavu rostlinné tkáně a tím i variabilitu sekundárního metabolismu. Proto může architektura rostliny, která ovlivňuje mikroklima ve výhonku, značně ovlivnit uniformitu kanabinoidů rostlin *Cannabis sativa* (Danziger & Bernstein 2021a).

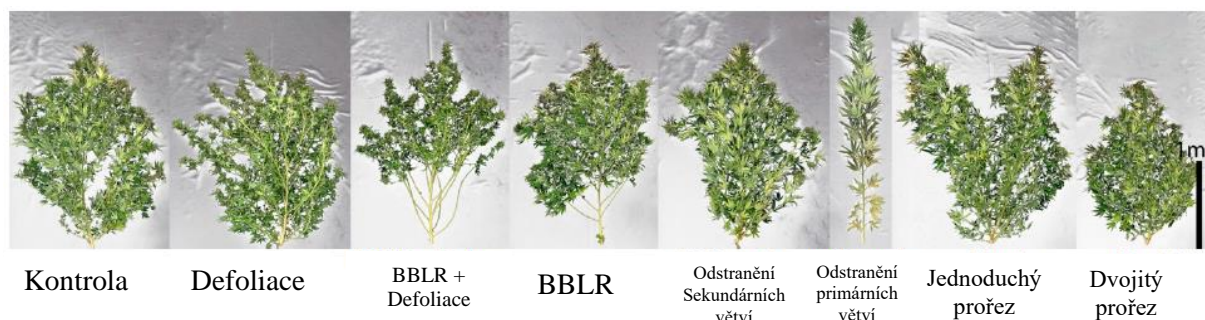
Již bylo zmíněno, že architektura rostlin má obrovský vliv na mikroklima výhonků, a to tím způsobem že ovlivňuje pronikání světla, vlhkost a teplotu v porostu. V zemědělských výrobních systémech se používá několik postupů ke změně architektury rostlin, včetně prořezávání hlavních stonků či větví, odstraňování větví nebo používání podpůrných konstrukcí. Další metodou ovlivnění klimatu porostu, která neovlivňuje strukturu rostliny, je úplné nebo částečné odstranění listů. Uvádí se, že změněné klima ve výhonku vyvolává změny v kvalitě výnosu, jako jsou zvýšené nutriční hodnoty v důsledku defoliace luštěnin a hroznů a kvalita prořezaných melounů a paprik. Architektonické změny habitu rostliny mohou buď zvýšit nebo snížit množství výnosu (Danziger & Bernstein 2021a).

Danziger & Bernstein (2021a) uvádějí, že u konopí je pouze jedna studie věnující se této problematice. Ta testovala účinky prořezávání hlavního stonku a u průmyslových odrůd konopí zaznamenala zvýšený výnos semen. U konopí „drogového typu“ bylo zjištěno, že odstranění větví, aby došlo ke snížení výnosové biomasy, vyvolalo změny v chemickém profilu rostlin a ten se lišil mezi jednotlivými odrůdami.

3.7.1 „Trimming“

Při pěstování konopí se široce používají techniky managementu plodin, které modifikují morfologii rostlin. Řez, také známý jako „topping“, je běžnou praxí v managementu konopí, protože ovlivňuje architekturu rostlin, alokaci biomasy a výnos květenství a kanabinoidů na rostlinu a plochu. Vegetační vrchol se při těchto postupech odstraňuje, aby se narušila apikální dominance. Odstranění apikálního meristému ovlivňuje zejména hormonální rovnováhu v rostlině (např. auxin, cytokinin), podporuje vývoj postranních výhonků snížením apikální dominance a v důsledku toho se mění architektura rostlin, která může zvýšit pronikání světla do porostu a cirkulaci vzduchu. Vzájemné zastínění mezi výhony může také změnit koncentraci kanabinoidů v květenstvích, což vede k odlišným mikroklimatům v jednotlivých částech rostliny (Roussin et al. 2022).

Mezi používané techniky zásahů do habitu rostliny Danziger & Bernstein (2021a) ve své studii uvádějí defoliaci, BBLR – odstranění spodních větví a listů, odstranění primárních nebo sekundárních větví a prořez. Následky těchto zásahů jsou vidět na obrázku 7.



Obrázek 7: Znázornění vlivu jednotlivých mechanických zásahů na habitus rostlin konopí v období dozrání sekundárních metabolitů v porovnání s kontrolou. (BBLR = odstranění spodních větví a listů) (Zdroj: Danziger & Bernstein 2021a)

3.7.1.1 Defoliace

Dle Danziger & Bernstein (2021a) spočívá v odstranění 85% listů z rostliny, s tím, že listy byly ponechány na vrcholové části rostliny. Toto opatření prováděli 3 týdny před dozráním rostliny a bylo prováděno z důvodu zlepšení propustnosti světla do porostu a pro zlepšení cirkulace vzduchu.

3.7.1.2 BBLR

BBLR z anglického „Bottom branches & leaves removal“ v překladu odstranění spodních větví a listů na rostlině, se také někdy nazývá jako „lollipoping“ (rostlina po zásahu připomíná lízátko). Tento zásah spočívá v odstranění všech listů a sekundárních větví ze spodní třetiny rostlin. Provádí se tři týdny po přechodu na krátkodenní režim osvětlení porostu. Účelem tohoto zásahu je přesměrování rostlinných zdrojů do vrcholových částí rostliny, dále ke zlepšení cirkulace vzduchu v porostu a v neposlední řadě může tento zásah pomáhat s bojem proti škůdcům na rostlinách (Danziger & Bernstein 2021a).

3.7.1.3 Odstranění primárních větví

K odstranění všech větví z hlavního stonku dochází pravidelně každý týden až do doby tří týdnů před dozráním rostliny. Toto opatření se provádí s vidinou utvoření jednoho velkého květenství na hlavním stonku. Cílem je zvýšit tak chemickou variabilitu v květenství snížením variability mikroklimat v rostlině (Danziger & Bernstein 2021a).

3.7.1.4 Odstranění sekundárních větví

V tomto případě dochází k odstranění všech sekundárních větví na rostlině, včetně odstranění terciálních květenství z primárních větví. Tento zásah se provádí stejně jako odstranění primárních větví, tedy pravidelně každý týden do doby tří týdnů před dozráním rostliny. Cílem je vytvořit podmínky pro vznik několika květenství, které jsou vystaveny podobným mikroklimatům, a tedy měly by pak mít nízkou chemickou variabilitu (Danziger & Bernstein 2021a).

3.7.1.5 „Topping“

„Topping“ nebo „fimming“, spočívá v odstranění nebo zničení apikálního meristému. Tento zásah indukuje produkci axilárních výhonků, které zvýší počet květů na rostlině a tím

zvýší výnos rostlin konopí. „Topping“ se obvykle provádí poté, co byly řízky rostliny přeneseny do sadbového média po dobu dvou týdnů. Každý řízek obvykle vytvoří jeden hlavní stonek, který bude nést hlavní květenství. Pro zvýšení produktivity květenství na rostlinu je běžné provádět „topping“. Při těchto procesech je horní vrchol stonku odstraněn nebo poškozen, tak aby se narušila apikální dominance rostliny. Apikální dominance je jev, při kterém růst vrcholu výhonu, obecně hlavního stonku, inhibuje růst axilárních květenství nebo větví, což je proces vysoce závislý na fytohormonech (Gaudreau et al. 2020).

Gaudreau et al. (2020) uvádí také alternativní přístup k provádění tohoto opatření. Modifikace standardní metody topování spočívá v jeho provádění ještě na matečných rostlinách před odběrem řízků ke klonování. Řízky se odebírají jeden týden po provedení zásahu. Takto ošetřené rostlinky vyvinou axilární výhonky mnohem rychleji a doba produkce od řízkování po sklizeň se zkrátí o 7-10 dní. Takto upravený způsob vyžaduje minimální přizpůsobení klasickému pracovnímu postupu a rostliny jsou stejně produktivní, jako když se provádí standardní „topping“. Tato metoda navíc zkracuje čas potřebný na pěstování a ušetří se téměř dva týdny ve srovnání se standardním postupem, jelikož se sazenice po zásahu nemusí zotavovat. Použití tohoto nového postupu má za následek rychlejší dobu výroby a v konečném důsledku zvýšenou produktivitu.

4 Metodika

4.1 Základní parametry pěstebního prostoru

Pro výzkum spojený s rostlinami konopí byl na Fakultě agrobiologie, přírodních a potravinových zdrojů České zemědělské univerzity v Praze vybudován pěstební prostor, který je umístěn v suterénu fakultní Budovy B. Jedná se o takzvanou „indoor“ pěstírnu o celkové ploše 85 m².

Prostor je rozdělen na čtyři samostatné pěstební místnosti, každá o velikosti 3x5 m (15 m²). Tři místnosti jsou určeny ke kultivaci a jejich prostor je vybaven čtyřmi pěstebními stoly o rozměru 1x2 m s celkovou plochou 8 m². Na každý stůl lze umístit až 55 květníků o objemu 3,45 litru. Pod každým stolem se pak nachází dvě nádoby s objemem do 100 litrů. Jedna vždy slouží jako nádrž pro živný roztok, ze které je živný roztok přiváděn k rostlinám pomocí kapilár s jehlovým aplikátorem. Druhá pak je využita při použití průtokového systému jako nádrž odpadní, kde se použitý živný roztok již nemísí s nepoužitým a již není znovu využit. Čtvrtá místnost je vybavena dvěma stoly se stejným systémem, které nesou mateřské rostliny. Zbytek místnosti je vyhrazen pro pěstování rostlinných řízků a klíčení semen.

4.1.1 Systém závlahy

Rostlinná závlaha byla zajištěna pomocí kapilár umístěných individuálně v květnících. V případě nevyužívání všech vývodů kapilár, které stůl nabízí, byly přebytečné zaslepeny. V období kultivace bylo pomocí časovače zajištěno devět závlahových cyklů o délce 60 sekund denně. Během jednoho cyklu bylo dodáno 94 ml živného roztoku ke každé rostlině, celkem tedy 846 ml za den. Živný roztok byl připravován z demineralizované vody a koncentrace jednotlivých živin v jednotlivých týdnech jsou v tabulce 1.

Tabulka 1: Obsah živin v živném roztoku v průběhu pěstování (mg/l) EC (mS/cm)

	Živina												
	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	Zn	Cu	B	Mo	EC*
1	58	8,5	41,22	29,5	10,0	4,38	1,57	0,17	0,27	0,08	0,43	0,06	0,39
2	70	13,5	52,96	32,6	12,7	5,70	1,23	0,61	0,43	0,09	0,52	0,06	0,52
3	85	15,9	62,24	40,3	15,0	6,68	1,39	0,75	0,52	0,10	0,64	0,08	0,62
4	85	16,8	63,85	40,3	15,3	6,97	1,47	0,58	0,51	0,10	0,64	0,07	0,63
5	87	37,1	123,20	42,3	17,6	7,77	1,41	0,28	0,53	0,10	0,65	0,06	0,71
6	69	36,3	63,22	39,3	17,0	7,69	1,22	0,69	0,49	0,09	0,60	0,06	0,71
7	103	41,8	137,70	46,4	20,0	9,08	1,63	0,52	0,61	0,12	0,72	0,07	0,82
8	103	45,1	151,30	45,3	21,0	9,99	1,90	1,50	0,61	0,12	0,73	0,11	0,86
9	89	44,3	143,75	47,6	20,1	9,30	1,74	1,60	0,60	0,12	0,74	0,10	0,86

*Electrical Conductivity = Elektrická vodivost

4.1.2 Mikroklimatické podmínky

Vzduchotechnická jednotka v pěstírně udržovala a zaznamenávala relativní vlhkost vzduchu, teplotu a koncentraci CO₂. Relativní vlhkost vzduchu byla po dobu kultivace rostlin v květové fázi udržována průměrně na hodnotě 40 %. CO₂ bylo do atmosféry pěstebních prostor přiváděno a doplňováno pomocí generátoru fungujícímu na principu spalování metanu a jeho koncentrace byla udržována na hodnotě 550 ppm (1065 mg/m³). Teplota byla v průběhu celého vegetačního cyklu udržována na 25 °C během denní (světelné) fáze a při noční (temné) fázi byla snížena na 22 °C.

4.1.3 Osvětlení

Světelný režim ve všech čtyřech pěstebních místnostech byl zajišťován pomocí vysokotlakých sodíkových výbojek (HPS) s výkonem 1000 W, jenž zajišťovaly pro rostliny plné světelné spektrum. V jedné místnosti se nacházelo šest takových výbojek a jejich světelný režim byl nepřetržitě zaznamenáván.

4.2 Rostlinný materiál

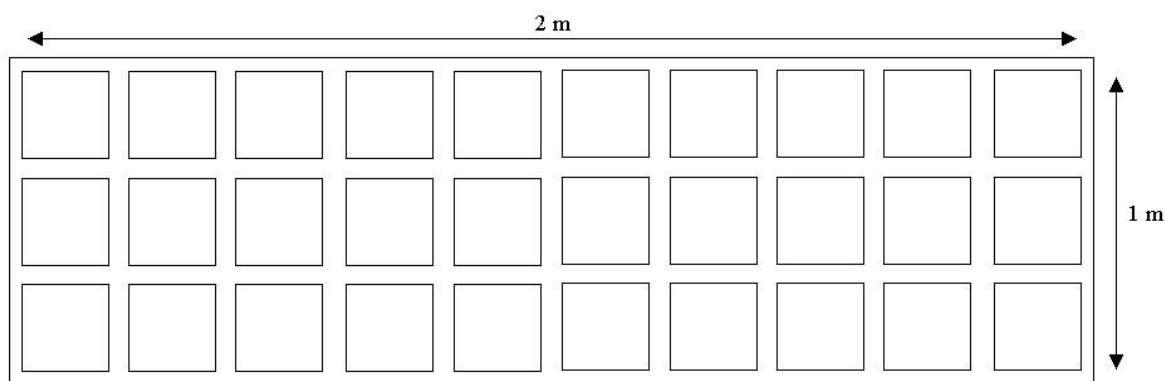
4.2.1 Příprava a kultivace

Na pokus byly použity rostliny léčebného konopí predominantního THCA chemického fenotypu I. Z matečných rostlin umístěných v jedné z místností prostoru pěstírny byly pořízeny rostlinné řízků. Přibližně 300 řízků bylo umístěno do rockwoolových kostek o velikosti 4 x 4 cm, ve kterých následně tři týdny kořenily. Následně bylo vyselektováno 30 rostlin, ty byly přesazeny do květináčů o objemu 3,45 litru, které byly naplněny inertním hydroponickým médiem, kdy v případě tohoto experimentu byl použit expandovaný jííl (keramzit). Na stůl bylo umístěno 15 rostlin s odstraněným apikálním vrcholem, k jehož odstranění došlo před přesazením do květináčů a započítím vegetativní fáze rostlin a 15 neošetřených rostlin.

Rostliny procházely vegetačním cyklem trvajícím celkově 9 týdnů. První fáze, vegetativní či také růstová fáze, trvala jeden týden a probíhá s fotoperiodou podmínek dlouhého dne, tedy 18 hodin světla a 6 hodin tmy. Následující fáze, generativní fáze, také nazývaná květová, trvala 8 týdnů a probíhala s fotoperiodou krátkého dne – 12 hodin světla a 12 hodin tmy.

4.2.2 Vzorkování, uskladnění a homogenizace

V pěstebním prostoru byly rostliny umístěny na jeden ze čtyř stolů. Jeden stůl obsahoval 30 rostlin. Během celého vegetačního cyklu byly rostliny postupně odebírány. Na konci daného týdne (8. a 9. týden) byly vybrány tři podobné rostliny variant bez odstraněného vrcholu a tři s odstraněným vrcholem, celkem tedy 6 rostlin týdně. Rozložení rostlin na stole vidět na obrázku 8.



Obrázek 8: Rozložení rostlin na pěstebním stole

Poté byly rostliny zbaveny kořenů, vcelku zváženy v čerstvém stavu a rozděleny na tři části (květ, list a stoněk). Každá část rostliny byla zvážena samostatně v čerstvém stavu. Květy (listy a květy do 4. vegetačního týdne byly analyzovány společně, jelikož květy nejsou ještě dostatečně utvořeny) byly poté sušeny v sušárnách při 25 °C do konstantní vlhkosti (8-10 %). Poté byly znovu zváženy, vakuovány a přemístěny do chladících boxů s teplotou 4 °C.

Listy (až od 5. vegetačního týdne) a stonky byly sušeny minimálně 48 hodin při teplotě 105 °C, poté byly také zváženy a uloženy při pokojové teplotě pro analýzu. Před samotnými analýzami byly rostlinné části homogenizovány zvlášť. Květy (včetně listů do 4. vegetačního týdne) byly zmrazeny tekutým dusíkem a následně rozemlety v třecí misce s tloučkem. Z každého vzorku se odebrala část a byla sušena se při 105 °C pro stanovení hmotnosti sušiny. Listy (od 5. vegetačního týdne) a stonky byly rozemlety v mlýnku před samotnou analýzou.

4.3 Metody

4.3.1 Extrakce, identifikace a kvantifikace sekundárních metabolitů

Sekundární metabolity z nadrcených a homogenizovaných květů (do 4. vegetačního týdne květů a listů) byly extrahovány pro naše podmínky optimalizovanou metodou zvanou „dynamická macerace“. Navázili jsme 0,30 g vzorku do 50 ml kádinek, kam bylo poté odpipetováno 10 ml rozpouštědla (96% ethanolu s čistotou pro UV). Tento proces byl opakován s požadovaným množstvím vzorku, v našem případě byla limitací kapacita míchací desky. Vzorky byly následně po dobu 60 minut macerovány za stálého míchání na magnetické míchače při 300 otáčkách za minutu. Poté byly za sníženého tlaku zfiltrány pomocí filtračního zařízení dle Mortona s fritovými filtry o pórovitosti S4/P16 a filtrát byl převeden do 50 ml kónických plastových zkumavek. Z filtru byly následně opatrně odstraněny květy a byly přeneseny zpět do původních kádinek a kde se k nim opět přidalo 10 ml rozpouštědla. Celkem se tento krok opakoval třikrát a všechny 3 filtráty jednoho vzorku byly smíseny do jednoho. Původní navážka 0,3 g květů se tedy extrahovala celkem 30 ml rozpouštědla. Následně bylo třeba každý směsný vzorek dostatečně promíchat a poté z něj byl odebrán objem 0,5 ml který byl ještě 20x zředěn rozpouštědlem. Zředěný směsný filtrát se poté naposledy filtroval s použitím nylonového sříkačkového filtry (0,22 µm) do vialek. Takto připravené vzorky následně putovaly k analýze.

V případě kanabinoidů a flavonoidů byla využita analytická koncovka systému vysokoúčinné kapalinové chromatografie vybaveného detektorem s diodovým polem (HPLC-DAD) s kolonou Luna® C18 (2) o rozměru 250 × 3 mm, 3 µm. Mobilní fáze se skládala z acetonitrilu/H₂O (31:9, v/v) s 0,1% HCOOH (v/v) a 0,1 mol/l NH₄COOH (bez úpravy pH), průtoková rychlost byla 0,55 ml/min, teplota 37°C, nástřik vzorku byl 8 µl a detekce probíhala pomocí UV o vlnové délce 275 nm. Přístroj byl externě kalibrován s použitím CBNA v rozsahu 0,3-10 mg/l a (THCA v rozsahu 0,3-100 mg/l jakožto standardy.

Pro analýzu terpenických sloučenin byl jako analytická koncovka využit plynový chromatograf s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID). Parametry GC-FID byly následující: kolona DB5 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, teplota vstupu 230°C, teplota detektoru 300°C a konstantní tok dusíku o rychlosti 1 ml/min. Počáteční teplota programu byla 60°C, která byla zvyšována rychlostí 3,5°C/min, dokud nedosáhla teploty 150°C, a pak rychlostí 30°C/min, dokud nedosáhla konečné teploty 300°C. Detekované látky byly identifikovány pomocí plynového chromatografu s hmotnostním detektorem (GC-MS). Podmínky GC-MS byly následující: kolona HP-5MS 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm tloušťky filmu, teplota vstupu 230°C, teplota detektoru 300°C a konstantní tok helia o rychlosti 1 ml/min. Počáteční teplota programu byla 60°C, která byla zvyšována rychlostí 3,5°C/min, dokud nedosáhla teploty 150°C, a pak rychlostí 30°C/min, dokud nedosáhla konečné teploty 300°C. Sloučeniny detekované pomocí GC-MS byly porovnávány s databází Národního Institutu pro Standardy a Technologie (NIST) a dostupnými standardy.

4.4 Statistická analýza

Získaná data byla podrobena statistické analýze ve formě analýzy rozptylu – ANOVA následovanou Turkeyho HSD testem s $\alpha=0,05$. Analýza byla provedena statistickým programem STATISTICA 12 společnosti Tibco.

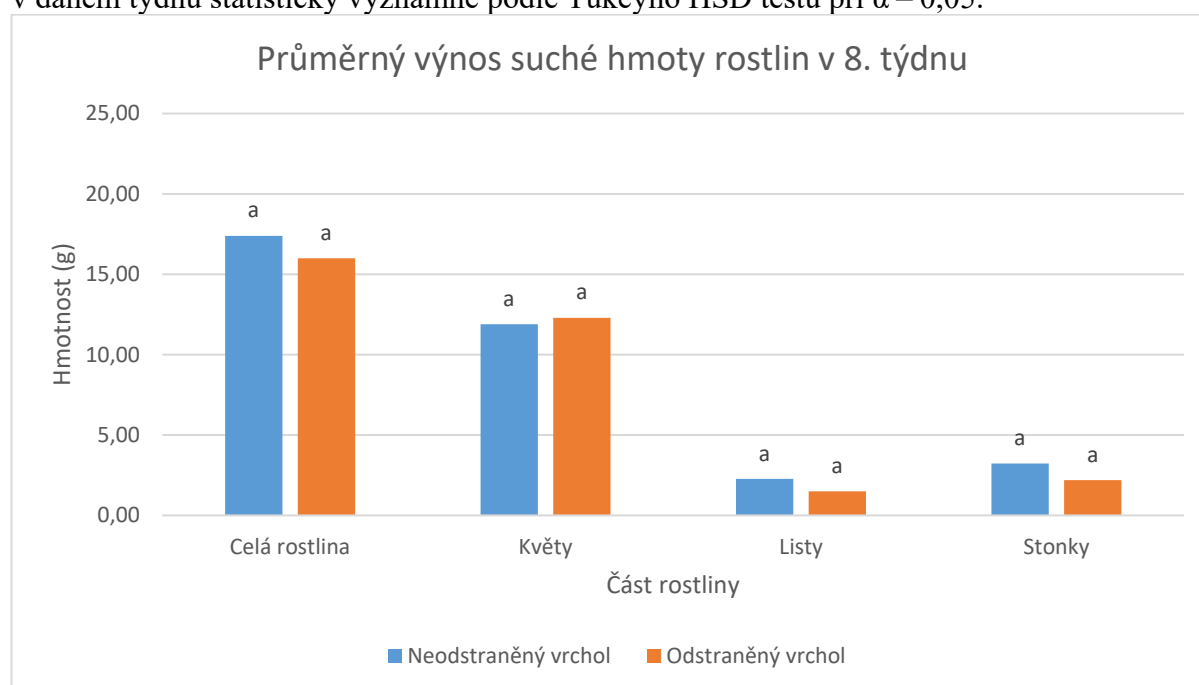
U každé z analyzovaných variant byla použita data ze tří rostlin. Průměrné hodnoty byly převedeny do zvoleného typu grafu a statistická významnost byla zobrazena pomocí malých písmen, kdy stejná písmena zobrazují že výsledek nebyl statisticky průkazný a v případě dvou odlišných malých písmen se jedná o statisticky průkazné rozdíly pro dané pozorování.

5 Výsledky

V námi vedeném experimentu bylo ke sledování a hodnocení vybráno několik parametrů, jmenovitě pak výnos suché hmoty rostlin, obsah a výtěžnost kanabinoidu THCA, obsah kanabioidu CBNA, terpenu limonenu a β -karyofylenu a flavonoidu cannaflavinu A.

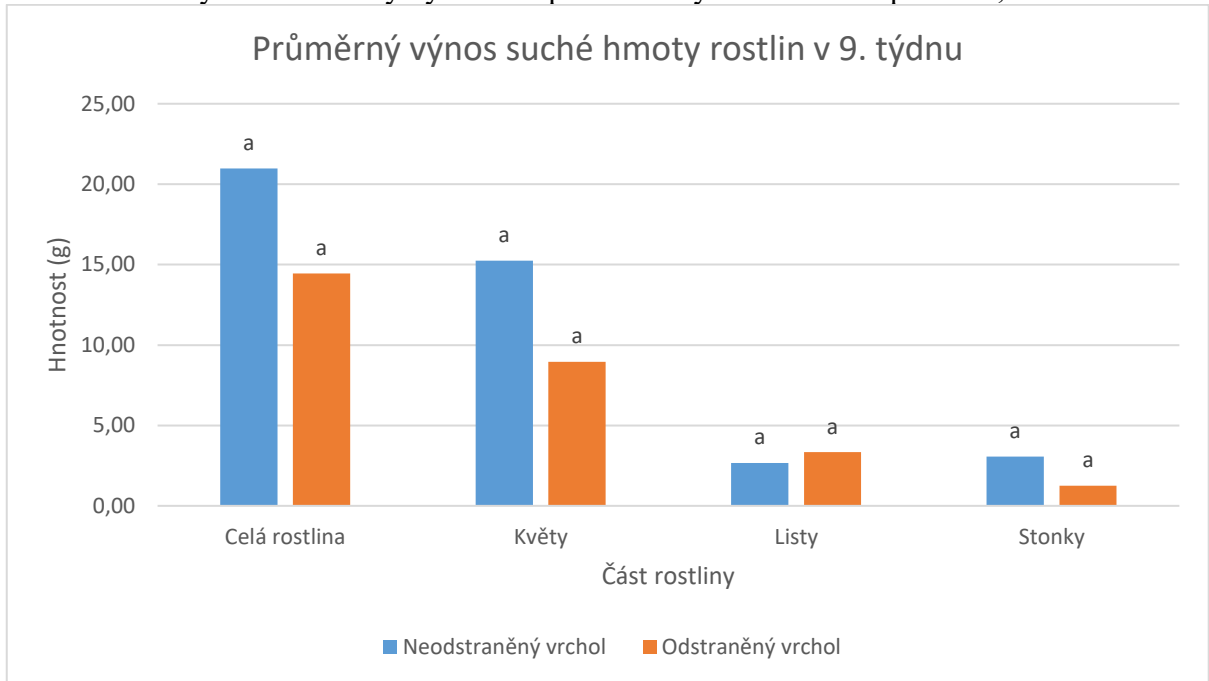
5.1 Výnos suché hmoty rostlin

Efekt odstranění vegetačního vrcholu na výnos suché hmoty rostliny v osmém týdnu pěstování je zobrazený v obrázku 9. Z grafu je patrné, že průměrný výnos celých rostlin u varianty bez odstranění vegetačního vrcholu byl vyšší (17,40 g) než u varianty s odstraněným vrcholem (16,00 g), toto se odráží v jednotlivých částí rostliny, kdy byl výnos suché hmoty vyšší u listů a stonků. Oproti tomu v případě květů byl vyšší průměrný výnos suché hmoty u varianty s odstraněným vrcholem (12,30 g) vůči neošetřené variantě (11,90 g). Údaje jsou průměry \pm SE (standartní chyba) (počet pozorování $n = 3$). Malá písmena nad sloupci zobrazují, zdali byly rozdíly mezi jednotlivými variantami u celé rostliny a u jednotlivých jejích částí v daném týdnu statisticky významné podle Tukeyho HSD testu při $\alpha = 0,05$.



Obrázek 9: Průměrný výnos suché hmoty rostlin v 8. týdnu pěstebním týdnem mezi variantou s odstraněným vrcholem a neošetřenou rostlinou. Data jsou průměry \pm SE ($n=3$). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$.

Graf číslo 10 ukazuje rozdíly v průměrném výnosu suché hmoty rostliny jak v jejím celém stavu, tak v jejích jednotlivých částech (stonek, list a květ). Celé rostliny (20,99 g, 14,45), květy (15,24 g, 8,95 g) a stonky (3,07 g, 1,25 g) měly vyšší výnos v případě varianty bez odstraněného vrcholu naopak u listů byl průměrný výnos vyšší u varianty s odstraněným vrcholem (2,67 g proti 3,35 g). Údaje jsou průměry \pm SE ($n=3$). Malá písmena nad sloupci zobrazují, zdali byly rozdíly mezi jednotlivými variantami u celé rostliny a u jednotlivých jejích částí v daném týdnu statisticky významné podle Tukeyho HSD testu při $\alpha = 0,05$.

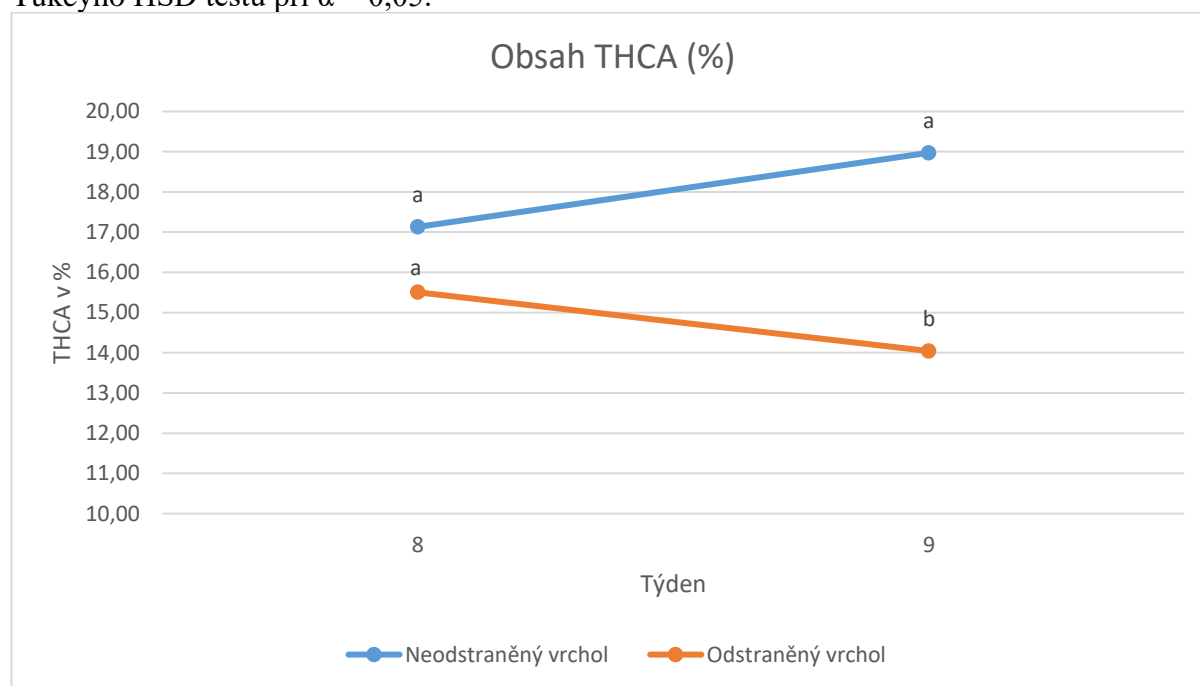


Obrázek 10: Průměrný výnos suché hmoty jednotlivých částí rostlin v 9. pěstebním týdnu mezi variantou s odstraněným vrcholem a neošetřenou rostlinou. Data jsou průměry \pm SE ($n=3$). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$.

5.2 Obsah sekundárních metabolitů

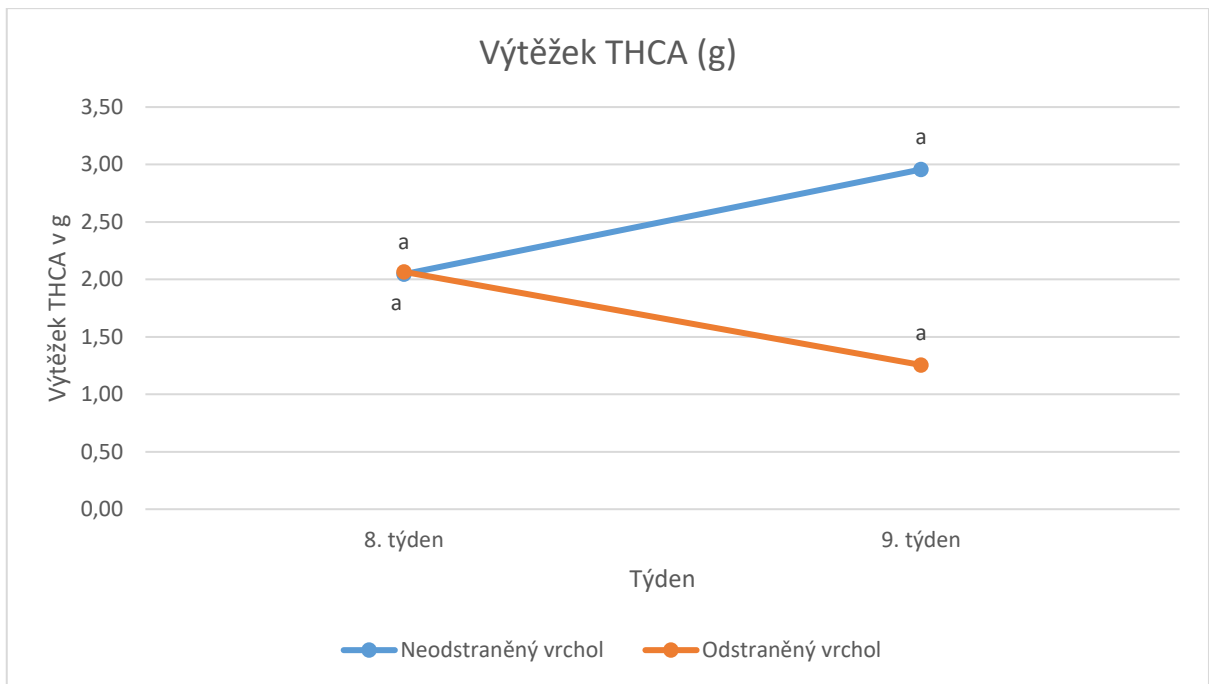
5.2.1 THCA

Koncentrace THCA v květech léčebného konopí ovlivněné odstraněním vegetačního vrcholu jsou k vidění na obrázku 11. V případě varianty s neodstraněným vrcholem byla v obou sledovaných týdnech koncentrace vyšší (17,13 % a 18,97 %) oproti variantě s vrcholem odstraněným (15,50 % a 14,04 %). V 8. pěstebním týdnu nebyl rozdíl statisticky průkazný, v 9. týdnu statistická významnost potvrzena byla. Varianta s neodstraněným vrcholem vykazovala mezi týdny rostoucí trend, zatímco v případě odstraněného vrcholu se obsah THCA snižoval. Analyzovány byly celé květy. Data jsou průměry \pm SE ($n = 3$). Malá písmena představují, zdali byly rozdíly v koncentraci THCA mezi variantami v daném týdnu statisticky významné podle Tukeyho HSD testu při $\alpha = 0,05$.



Obrázek 11: Obsah THCA (%) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE ($n=3$). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$.

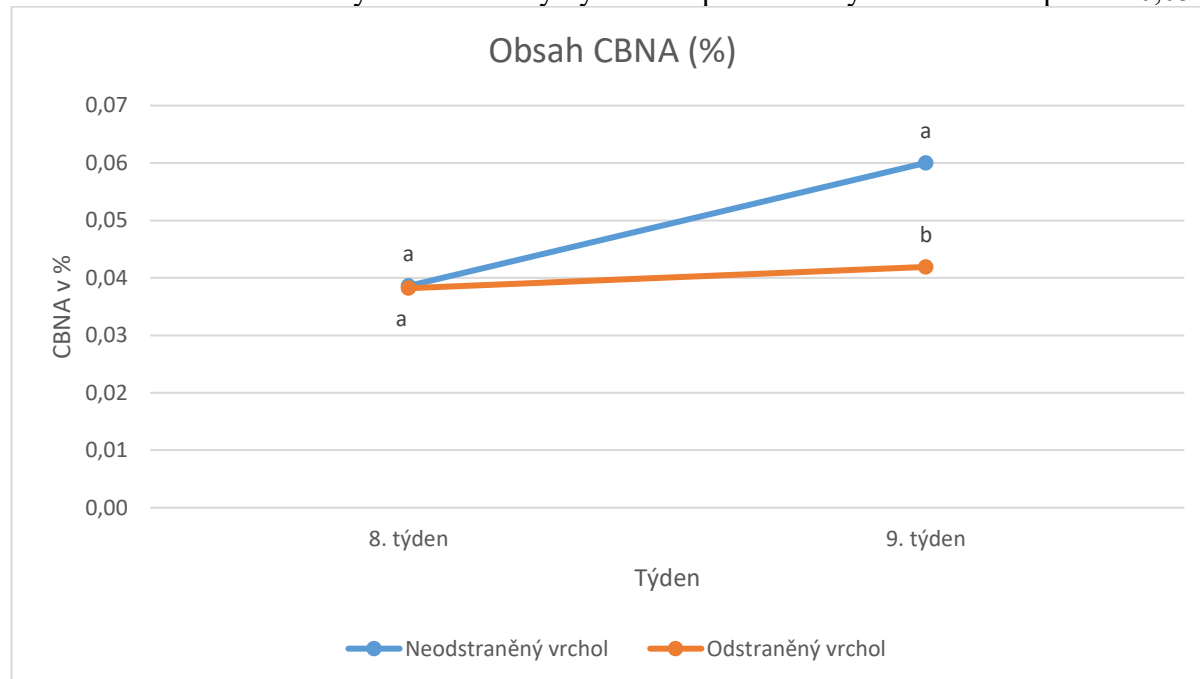
Průměrný výtěžek THCA z rostliny v gramech na obrázku 12 ukazuje že u varianty s neodstraněným vrcholem byl v osmém týdnu nepatrně nižší výnos THCA (2,05 g) oproti variantě s odstraněným vrcholem (2,07 g) avšak tato varianta vykazovala rostoucí trend, zatímco varianta s odstraněným vrcholem měla trend klesající a v devátém týdnu byl výtěžek s neodstraněným vrcholem 2,96 g, zatímco s odstraněným vrcholem byl výtěžek 1,26 g. Rozdíly mezi variantami nebyly statisticky průkazné. Data jsou průměry \pm SE ($n = 3$). Malá písmena představují, zdali byly rozdíly ve výtěžku THCA mezi variantami v daném týdnu statisticky významné podle Tukeyho HSD testu při $\alpha = 0,05$.



Obrázek 12: Výtěžek THCA (g) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE ($n=3$). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$.

5.2.2 CBNA

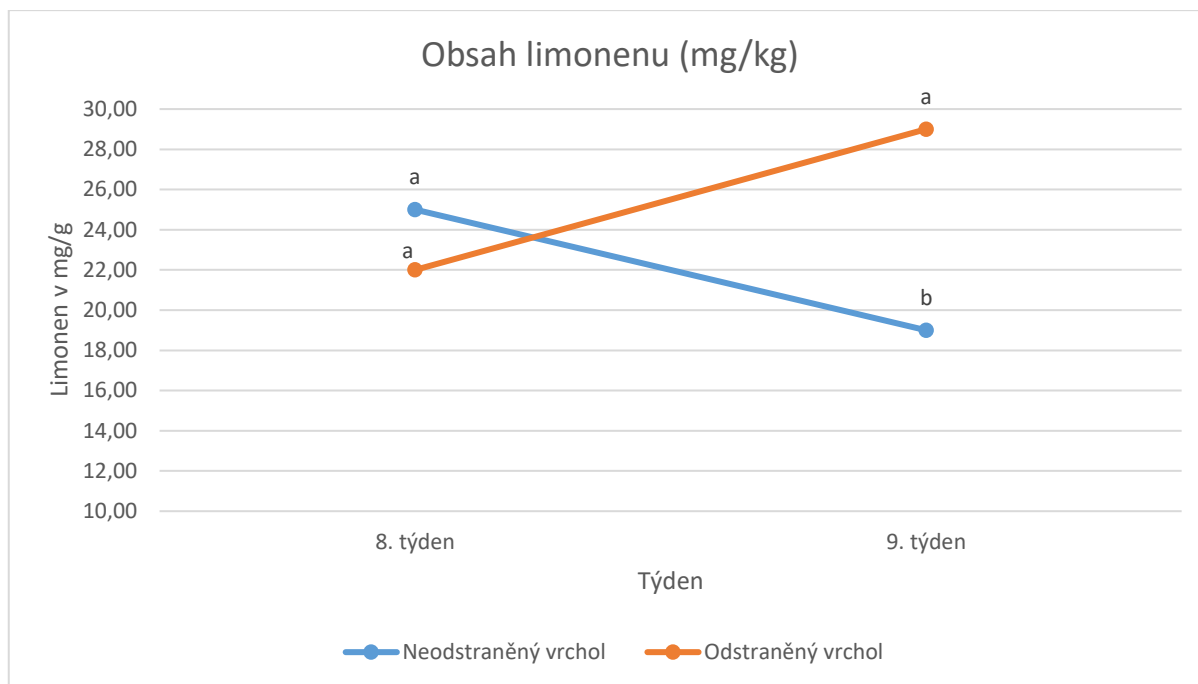
Obsah CBNA (mg/kg) v 8 a 9 týdnu je zobrazen na obrázku 13. V 8 týdnu byla u varianty s neodstraněným vrcholem hodnota obsahu CBNA stejná s variantou s odstraněným vrcholem s hodnotou 0,04 %. V 9. týdnu je opět varianta s neodstraněným vrcholem vyšší s hodnotami 0,06 % oproti 0,04 % a rozdíly jsou v tomto případě statisticky průkazné. U obou variant je patrný nárůst koncentrace CBNA mezi sklizňovými týdny. Analyzovány byly celé květy. Data jsou průměry \pm SE ($n = 3$). Malá písmena představují, zdali byly rozdíly v koncentraci CBNA mezi variantami v daném týdnu statisticky významné podle Tukeyho HSD testu při $\alpha = 0,05$.



Obrázek 13: Obsah CBNA (%) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebnímu týdnu. Data jsou průměry \pm SE ($n=3$). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$.

5.2.3 Limonen

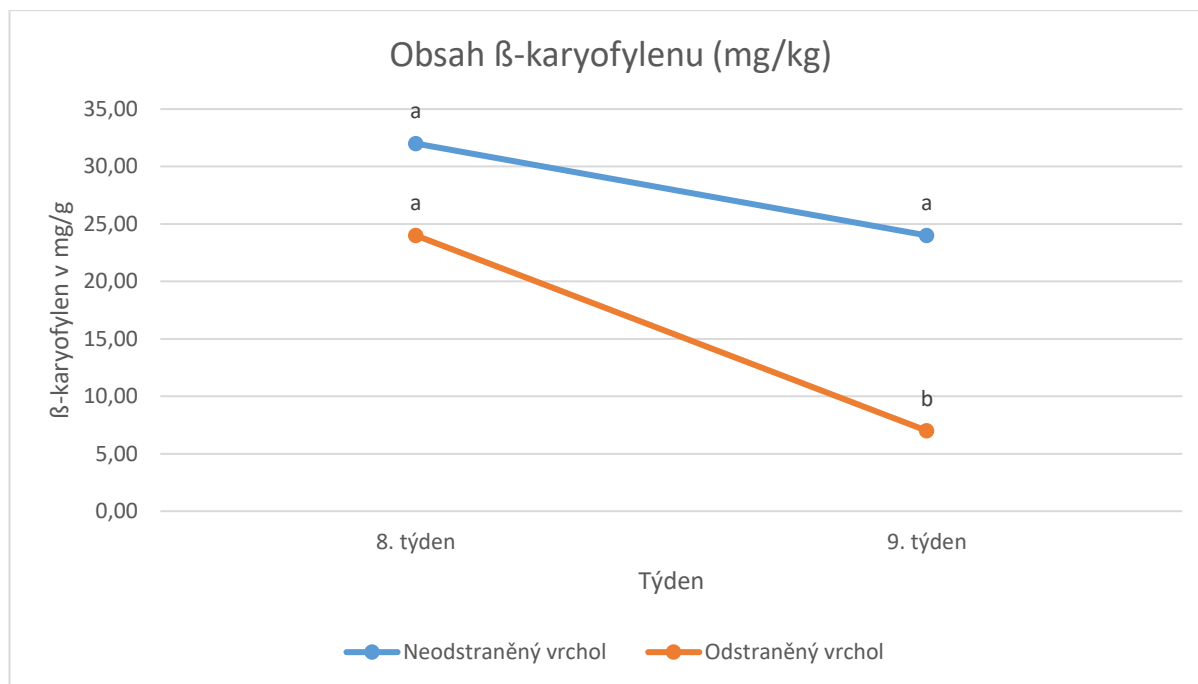
Terpen limonen (mg/g) v květech léčebného konopí v osmém a devátém týdnu je vyobrazen na obrázku 14. Varianta s neodstraněným vrcholem má v osmém týdnu vyšší hodnotu (25,00 mg/kg) než varianta s odstraněným vrcholem (22,00 mg/kg), avšak má klesajícím trendem do 9. týdne. Zatímco varianta s odstraněným vrcholem má rostoucí trend a v 9. týdnu nabývá vyšších hodnot (29,00 mg/kg) oproti neodstraněnému vrcholu (19,00 mg/kg). Rozdíly v 8. týdnu nejsou statisticky průkazné, v týdnu 9. statisticky průkazné byly. Analyzovány byly celé květy. Data jsou průměry \pm SE ($n = 3$). Malá písmena představují, zdali byly rozdíly v koncentraci limonenu mezi variantami v daném týdnu statisticky významné podle Tukeyho HSD testu při $\alpha = 0,05$.



Obrázek 14: Obsah limonenu (mg/kg) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE ($n=3$). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$.

5.2.4 β -karyofylen

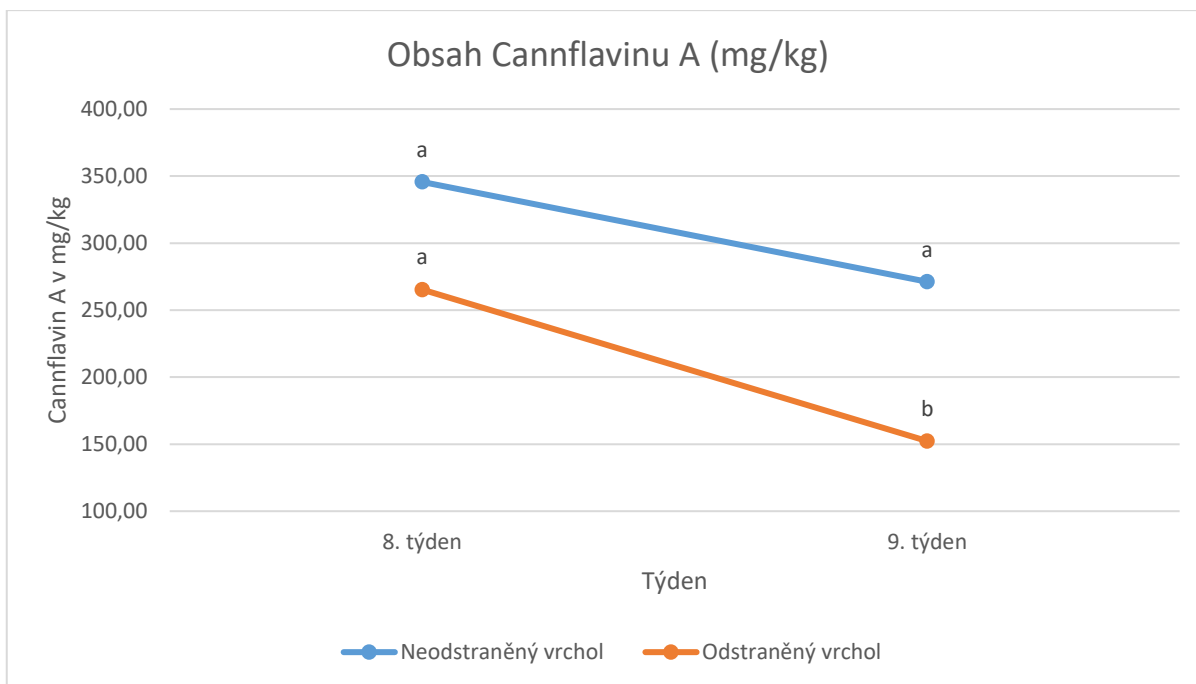
Obsah β -karyofylenu v 8. a 9. týdnu je patrný z obrázku 15. V květech rostlin se u varianty s neodstraněným vegetačním vrcholem vyskytoval ve vyšším množství jak v osmém (32 mg/kg), tak v devátém týdnu (24 mg/kg). V případě rostlin s odstraněným vrcholem byly hodnoty 8. a 9. týdnu 24 mg/kg a 7 mg/kg. Obě varianty vykazovaly klesající trend a rozdíly v osmém týdnu nebyly statisticky významné. Analyzovány byly celé květy. Data jsou průměry \pm SE ($n = 3$). Malá písmena představují, zdali byly rozdíly v koncentraci β -karyofylenu mezi variantami v daném týdnu statisticky významné podle Tukeyho HSD testu při $\alpha = 0,05$.



Obrázek 15: Obsah β -karyofylenu (mg/kg) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE ($n=3$). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$.

5.2.5 Cannflavin A

Na obrázku 16 je vyobrazen průměrný obsah cannflavinu A v 8. a 9. týdnu. V případě varianty s neodstraněným vrcholem byl v 8. týdnu byl cannflavin A obsažen v množství 345,65 mg/kg, zatímco ve variantě s odstraněným vrcholem bylo množství 265,33 mg/kg. V devátém týdnu varianta s neodstraněným vrcholem na hodnotě 271,18 mg/kg druhá varianta byla 152,32 mg/kg a rozdíl mezi nimi byl statisticky průkazný. Analyzovány byly celé květy. Data jsou průměry \pm SE ($n = 3$). Malá písmena představují, zdali byly rozdíly v koncentraci cannflavinu A mezi variantami v daném týdnu statisticky významné podle Tukeyho HSD testu při $\alpha = 0,05$.



Obrázek 16: Obsah Cannflavinu A (mg/kg) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE ($n=3$). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$.

6 Diskuze

Vliv mechanických zásahů do habitu rostliny neměl výrazný vliv na výnos biomasy rostlin (Obrázek 9 a 10). V případě variant s rostlinami s odstraněným vegetačním vrcholem byl v osmém týdnu kultivace vyšší výnos suchých květů s hmotností 12,30 g oproti neošetřené variantě s výnosem 11,90 g. Tento rozdíl však nebyl statisticky průkazný. Při měření výnosu suché hmoty z devátého týdnu kultivace byly opět výnosy vyšší v případě neošetřené varianty s výjimkou suché hmotnosti listů, která byla ve variantě s odstraněným vrcholem vyšší s 3,55 g oproti 2,76 g, avšak ani v tomto týdnu nebyly rozdíly mezi ošetřenou a neošetřenou variantou statisticky průkazné. V případě varianty s neodstraněným vrcholem došlo mezi 8. a 9. týdnem k nárůstu biomasy což potvrzuje výsledky Crispim Massuela et al. (2022), který popsal stejný nárůst biomasy v průběhu týdnů. Stejně stanovisko však nelze zaujmout v případě rostlin s odstraněným vegetačním vrcholem, kdy stejný autor ve své práci uvádí, že po zásazích do habitu rostlin došlo ke zvýšení suché biomasy rostlin i přes to že po zásazích do apikálního meristému byly ošetřené rostliny nižší oproti kontrole.

THCA je nejkoncentrovanější kanabinoid zkoumaného chemotypu I léčebného konopí. Obsah kanabinoidu THCA byl rovněž vyšší u varianty bez odstraněného vegetačního vrcholu a vykazoval stále rostoucí tendenci, zatímco u rostlin s odstraněným vegetačním vrcholem byl mezi týdnem 8. a 9. trend klesající. Crispim Massuela et al. (2022) uvádí že obsahy v jeho práci sledovaného kanabinoidu CBD nebyly zásahem do habitu rostliny statisticky významně ovlivněny i když v závislosti na zásahu byly mírně vyšší nebo mírně nižší v porovnání s kontrolou.

V souvislosti s obsahem THCA (obrázek 11) v květech je třeba zohlednit také obsah CBNA (obrázek 13) jakožto oxidačního produktu THCA. V osmém týdnu byl obsah obou látek u obou variant srovnatelný (0,04 %) zatímco v devátém týdnu došlo k nárůstu koncentrace, který byl v případě ošetřené varianty patrný až v tisícinách procentního bodu. Tento nárůst byl výraznější v případě neošetřené varianty a mezi ní s hodnotou 0,06 % a ošetřenou variantou s hodnotou 0,04 % byl nalezen statisticky významný rozdíl. Z hodnoty THCA a CBNA a jejího nárůstu lze usuzovat, že rostliny stresované odstraněním vegetačního vrcholu dokončily svůj vývojový cyklus dříve, než byla prováděna měření, tedy nejpozději v 7. týdnu vegetace. To mohlo vést ke snížení výnosu suché hmoty a také k nižšímu obsahu THCA v 8. týdnu, jelikož již docházelo k oxidaci na CBNA, což by také vysvětlovalo, proč nebyl nárůst obsahu CBNA mezi týdnem 8. a 9. tak markantní oproti datům pozorovaným u varianty s neodstraněným vrcholem.

Chandra et al. (2009) ve své práci popisuje tento proces, kdy udává, že celkový obsah THCA se se zvyšujícím věkem rostliny konopí se zvyšuje, dokud nedosáhne nejvyšší hodnoty na konci období květu. Následuje období stagnace, které je vystřídáno postupným poklesem během nástupu stárnutí rostliny. Dále zmiňuje že, podobný trend byl pozorován i u dalších kanabinoidů ve zkoumaných rostlinách. De Backer et al. (2012) potvrdil toto tvrzení svými výsledky i přes to, že při výzkumu použil jinou odrůdu konopí.

V případě neošetřené varianty našeho pokusu lze usuzovat, že došlo k obdobnému procesu, který však byl opožděn o týden, tedy že k dokončení vývoje došlo v osmém týdnu, proto nebyl nárůst THCA v 9. týdnu tak výrazný a opět začalo docházet k oxidaci THCA na CBNA vedoucí k výraznému nárůstu tohoto metabolitu právě v devátém týdnu.

Tyto výsledky však z velké části nereflektují poznatky práce Danziger & Bernsteina (2021a, c), kteří ve svém pokusu popsali, že při specifických mechanických zásazích do habitu rostliny docházelo ke zvýšení obsahů kanabinoidů oproti kontrole, avšak tento rozdíl byl značně závislý na způsobu zásahu. Jakožto nejvýznamnější zásah s vlivem na sekundární metabolity se podle jejich výsledků jevíly zásahy spojené s odlistěním části rostliny. Tito autoři také v závěrech své práce uvádějí, že mechanické zásahy do habitu rostliny mohou být využity ke

zvýšení výnosu biomasy rostlin, avšak ke zvýšení obsahu sekundárních metabolitů by se mělo využívat jiných prostředků použitých při kultivaci rostlin. Crispim Massuela et al. (2022) ve své práci zabývající se obsahem CBD v rostlinách léčebného konopí také uvádí, že jeho celkové obsahy nebyly u jednotlivých variant zásahů do habitu rostlin statisticky významné. Odlišné výsledky ve své práci uvádí Folina et al. 2020, který uvádí, že odstranění vegetačního vrcholu mělo statisticky významný vliv na obsah CBD v květech konopí stejně tak jako na výnos suché hmoty rostlin a zásah měl vliv pozitivní i na další parametry rostlin. Je třeba podotknout že tento výzkum byl proveden ve vnějších podmínkách nikoliv v prostředí pěstírny.

Na základě výnosu suché hmoty květů konopí a obsahu THCA můžeme vypočítat jeho výtěžnost. I v tomto případě pokusy reflektovaly domněnku zmíněnou v předchozím odstavci, tedy, že rostliny z varianty s odstraněným vegetačním vrcholem dokončily svůj vývoj v dřívějším než osmém týdnu kultivace v důsledku stresu způsobeného zásahy do jejich habitu v průběhu vegetace. Toto tvrzení můžeme opřít o data z obrázku 13, kdy v 8 týdnu byl výtěžek obou variant srovnatelný (2,05 g pro neošetřenou variantu a 2,07g pro variantu ošetřenou), zatímco do 9. týdne se výtěžnost u neošetřené varianty zvýšila na 2,96 g a u ošetřené varianty se snížila na hodnotu 1,26 g. Statistická analýza však neprokázala průkazný rozdíl mezi pozorováními.

Klesající trend vykazoval flavonoid cannflavin A (obrázek 16), jeho výnos byl vyšší u varianty s neodstraněným vrcholem v obou pozorovaných týdnech, s tím, že statisticky významný rozdíl byl pozorovatelný v týdnu devátém. Calzolari et al. (2017) uvádí že, flavonoidy obecně mají v rostlině protektivní funkci, jejich produkce reaguje na faktory prostředí, což je pozorováno také u *C. sativa*. Například akumulace právě cannflavinu A není určena pouze geneticky, ale jako reakce na teplotu, sluneční záření, srážky a vlhkost v prostředí. Snížení jeho koncentrace by se proto mohlo přisuzovat stárnutí rostliny stejně jako v případě kanabinoidů, jelikož podmínky v prostředí pěstírny zůstávali konstantní, ale tento parametr by bylo vhodné přezkoumat ve specifickém experimentu.

Terpen limonen jako jediný ve výsledcích předčil v 9. týdnu ve variantě s odstraněným vrcholem variantu bez odstraněného vrcholu (obrázek 14). Jeho obsah vzrostl z 22,00mg/kg na 29,00 mg/kg, zatímco u neošetřené varianty došlo mezi týdny k poklesu z 25,00 mg/kg na 19 mg/kg. Turner et al. (1980) uvádí že limonen jakožto monoterpen snižuje svůj obsah sušením a skladováním rostliny. V tomto případě je pravděpodobnější, že vyšší koncentrace limonenu u varianty s odstraněným vrcholem mohli hůře reagovat na snížený obsah N v živném roztoku v důsledku zředování živného roztoku demineralizovanou vodou jakožto přípravy celého stolu ke sklizni. Tato úvaha pramení z tvrzení uvedeného Potterem (2004), že koncentrace kanabinoidů a terpenů je vyšší v případě že dojde ke snížení dostupnosti dusíku těsně před sklizní. β -karyofylen (obrázek 15) by na základě předchozí úvahy měl vykazovat obdobnou tendenci růstu v 9. týdnu u varianty s odstraněným vrcholem, avšak tato skutečnost se neprojevila tudíž zpochybňuje teorii nárůstu limonenu z předchozího odstavce. Zároveň by β -karyofylen jakožto seskviterpen měl být stabilnější. Proto by problematika obsahu terpenů při zásahu do vegetačního vrcholu měla být ověřena samostatným experimentem.

Další autoři, kteří se věnovali tématu sekundárních metabolitů v návaznosti na zásahy do habitu rostlin uvádějí následující zjištění. Pal & Mahajan (2017) ve své studii věnované vlivu prořezu a foliární aplikace $MgSO_4$ u Růže damašské (*Rosa damascena*) uvádí, že nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v procentuálním obsahu esenciálních olejů, avšak v případě plného prořezu došlo k lehkému nárůstu jeho obsahu. Dále uvádí, že částečný zásah do habitu rostliny vedl k většímu množství vyprodukované biomasy oproti plnému zásahu s tím, že výsledky nebyly konzistentní. Autoři píší, že kombinace částečného prořezu v kombinaci s foliární aplikací hnojiv může vést ke zvýšení výnosu biomasy i oleje u této rostliny. Crispim Massuela et al. (2022) uvádí že zásahy do habitu rostlin konopí měnili rozložení biomasy na rostlině se zvýšením výnosu suchých květů, ale nepřinášely zvýšení

výnosu sekundárních metabolitů. Zhang et al (2023) se zaměřili na vliv odstranění apikálního meristému u tabáku na obsah alkaloidů a zjistili, že provedením tohoto zákroku se nejen zvýšil obsah sekundárních metabolitů v listech tabáku, ale zároveň se oddálilo stárnutí rostlin. V případě provedení pokusu s modulací habitu rostliny koriandru výsledky ukázali, že prořez květenství neovlivnilo výnos fenolů, flavonoidů a karotenoidů, zatímco výnos listů narostl (Campos et al. 2019).

Výsledky provedeného pokusu na rostlinách léčebného konopí nepotvrdily předem stanovené hypotézy. Z výčtu uvedené literatury je patrné, že vliv zásahů do habitu rostliny není zcela pochopen a popsán a může se lišit nejen na druhové úrovni ale také na způsobu pěstování zkoumané plodiny. Proto je pro zlepšení znalostí dané problematiky a stanovení jasných závěrů potřeba další výzkum.

7 Závěr

Cílem práce bylo zjistit, zda mají zásahy do habitu rostlin, zejména vegetačního vrcholu vliv na obsah sekundárních metabolitů a na tvorbu biomasy. Výsledky experimentální části přinesly množství dat o výnosu biomasy rostlin léčebného konopí a jeho sekundárních metabolitů. Při vyhodnocení výsledků bylo zjištěno, že zásahy do habitu rostliny nepřinesly zvýšení obsahu sekundárních metabolitů. V případě THCA byl výnos v osmém týdnu o 1,63 % nižší v případě varianty s odstraněným apikálním vrcholem a devátém týdnu se tento rozdíl prohloubil s hodnotou 4,93 %. Hodnoty CBNA byly v 8 týdnu shodné s hodnotou 0,04% a v devátém týdnu byl nárůst koncentrace u ošetřené varianty patrný v tisícinách procentních bodů a projevil se nárůst ve prospěch neošetřené varianty o 0,2 %. Také nezvýšily ani výnos biomasy, kdy v 8. týdnu byl rozdíl ve hmotnosti obou variant nepatrný, ale neošetřené rostliny vykazovaly větší výnosy. Větší rozdíly byly pozorovány v 9. týdnu, kdy byly opět větší výnosy u rostlin neošetřených s výraznějšími rozdíly, a to jak v celkové biomase (20,99 g proti 14,50 g), tak hlavně ve výnosu květů, kde neošetřená varianta v průměru vytvořila 15,24 g květů oproti 8,95 g u varianty s odstraněným vrcholem. Z výsledků je možné usuzovat, že ošetřené rostliny dozrávaly v důsledku vystavení stresu na počátku vegetace rychleji, proto nevytvořily takové množství biomasy a obsahovaly menší množství sekundárních metabolitů. Stanovená hypotéza diplomové práce tedy nebyla potvrzena.

Množství studií věnovaných problematice této práce je omezené, a přináší nekonzistentní výsledky. Obecně se tato práce s výsledky ostatních autorů neshodovala, jelikož nedošlo k nárůstu obsahu sekundárních metabolitů u ošetřených variant, zároveň se také neshodovala s tvrzením, že takové mechanické zásahy zvyšují výnos biomasy.

Problematika diplomové práce stále není dostatečně objasněna a pro lepší pochopení procesů spojených s reakcí rostliny na mechanické zásahy a jejich vlivu na sekundární metabolismus, by bylo vhodné další vědecké zkoumání, které by odráželo poznatky této práce. V dalším experimentu by bylo vhodné rostliny podrobit rozborům i v dřívějších týdnech vegetace, jelikož v důsledku způsobeného stresu dozrávají dříve, což mělo vliv na výsledky této práce, případně se zaměřit na jednotlivé skupiny sekundárních metabolitů v samostatných výzkumech. Zároveň by bylo vhodné podobný experiment provést s jinými chemotypy léčebného konopí.

8 Literatura

- Aizpurua-Olaizola O, Soydaner U, Öztürk E, Schibano D, Simsir Y, Navarro P, Etxebarria N, Usobiaga A. 2016. Evolution of the cannabinoid and terpene content during the growth of *Cannabis sativa* plants from different chemotypes. *Journal of Natural Products* **79**:324–331.
- Anderson LC. 1974. A study of systematic wood anatomy in *Cannabis*. Botanical Museum leaflets, Harvard University **24**:29–36.
- Anderson LC. 1980. Leaf variation among *Cannabis* species from a controlled garden. Botanical Museum leaflets, Harvard University **28**:61–69.
- Andre CM, Hausman J-F, Guerriero G. 2016. *Cannabis sativa*: The plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science* **7**:19.
- Atkins P. 2020. Beyond potency: Flavonoids-the purples, reds, and blues. *MJH Life Sciences*. Available from <https://www.cannabissciencetech.com/view/beyond-potency-flavonoids-purples-reds-and-blues> (accessed January 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**:736.
- Bjelková M, Šmirous P, Vrbová M, Vaculík A. 2017. Komplexní metodika pěstování konopí setého. AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o.. Šumperk.
- Boncan DA, Tsang SSK, Li C, Lee IHT, Lam H-M, Chan T-F, Hui JHL. 2020. Terpenes and terpenoids in plants: Interactions with environment and insects. *International Journal of Molecular Sciences* **21**:7382.
- Borrelli F et al. 2009. Cannabidiol, a safe and non-psychoactive ingredient of the Marijuana Plant *Cannabis Sativa*, is protective in a murine model of colitis. *Journal of Molecular Medicine* **87**:1111–1121.
- Bouchard M, Dion CB. 2009. Growers and facilitators: Probing the role of entrepreneurs in the development of the cannabis cultivation industry. *Journal of Small Business & Entrepreneurship* **22**:25–37.
- Brenneisen R. 2007. Chemistry and Analysis of Phytocannabinoids and Other Cannabis Constituents Pages 17–49 in ElSohly M, editor. *Marijuana and the Cannabinoids*. Humana Press, Totowa.
- Burgel L, Hartung J, Schibano D, Graeff-Hönninger S. 2020. Impact of different phytohormones on morphology, yield and cannabinoid content of *Cannabis sativa* L. *Plants* **9**:725.
- Calzolari D, Magagnini G, Lucini L, Grassi G, Appendino GB, Amaducci S. 2017. High added-value compounds from cannabis threshing residues. *Industrial Crops and Products* **108**:558–563.

- Campos RAS, Seabra Junior S, Gonçalves GG, Neves LG, de Gusmão SAL, Vianello F, Lima GPP. 2019. Changes in bioactive compounds in spiny coriander leaves in response to inflorescence pruning at different growth stages. *Scientia Horticulturae* **245**:250–257.
- Caplan D, Dixon M, Zheng Y. 2019. Increasing inflorescence dry weight and cannabinoid content in medical cannabis using controlled drought stress. *HortScience* **54**:964–969.
- Carah JK et al. 2015. High Time for Conservation: Adding the environment to the debate on marijuana liberalization. *BioScience* **65**(8):822–829.
- Cassol-Jr OJ et al. 2010. Treatment with cannabidiol reverses oxidative stress parameters, cognitive impairment and mortality in rats submitted to sepsis by cecal ligation and puncture. *Brain Research* **1348**:128–138.
- Coffman CB, Gentner WA. 1977. Responses of greenhouse-grown *cannabis sativa*. to nitrogen, phosphorus, and potassium. *Agronomy Journal* **69**:832–836.
- Colbert M. 2014a. Cannabinoid profile: Cannabinol (CBN). Available from <http://www.theleafonline.com/c/science/2014/07/cannabinoid-profile-crash-course-cbn/> (accessed January 2023).
- Colbert M. 2014b. Cannabinoid Profile: Cannabigerol (CBG). Available from <https://www.theleafonline.com/c/science/2014/07/cannabinoid-profile-crash-course-cbg/> (accessed January 2023).
- Colbert M. 2014c. Cannabinoid Profile: Cannabichromene (CBC). Available from <https://www.theleafonline.com/c/science/2014/07/cannabinoid-profile-crash-course-cbc/> (accessed January 2023).
- Costa B. 2007. On the pharmacological properties of Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC). *Chemistry & Biodiversity* **4**:1664–1677.
- Crispim Massuela D, Hartung J, Munz S, Erpenbach F, Graeff-Hönninger S. 2022. Impact of Harvest Time and Pruning Technique on Total CBD Concentration and Yield of Medicinal Cannabis. *Plants* **11**:140.
- Crombie L, Ponsford R, Shani A, Yagnitinsky B, Mechoulam R. 1968. Hashish components. photochemical production of cannabicyclol from cannabichromene. *Tetrahedron Letters* **9**:5771–5772.
- Cunha JM, Carlini EA, Pereira AE, Ramos OL, Pimentel C, Gagliardi R, Sanvito WL, Lander N, Mechoulam R. 1980. Chronic administration of Cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. *Pharmacology* **21**:175–185.
- Danziger N, Bernstein N. 2021a. Shape matters: Plant architecture affects chemical uniformity in large-size medical cannabis plants. *Plants* **10**:1834.
- Danziger N, Bernstein N. 2021b. Light matters: Effect of light spectra on cannabinoid profile and Plant Development of medical cannabis (*Cannabis sativa* L.). *Industrial Crops and Products* **164**:113351.

- Danziger N, Bernstein N. 2021c. Plant architecture manipulation increases cannabinoid standardization in ‘drug-type’ medical cannabis. *Industrial Crops and Products* **167**:113528.
- De Backer B, Maebe K, Verstraete AG, Charlier C. 2012. Evolution of the content of THC and other major cannabinoids in drug-type cannabis cuttings and seedlings during growth of plants. *Journal of Forensic Sciences* **57**:918–922.
- de Meijer EP, Bagatta M, Carboni A, Crucitti P, Moliterni VM, Ranalli P, Mandolino G. 2003. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. *Genetics* **163**(1):335-46.
- De Petrocellis L, Melck D, Palmisano A, Bisogno T, Laezza C, Bifulco M, Di Marzo V. 1998. The endogenous cannabinoid anandamide inhibits human breast cancer cell proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **95**:8375–8380.
- De Petrocellis L, Orlando P, Moriello AS, Aviello G, Stott C, Izzo AA, Di Marzo V. 2011. Cannabinoid actions at TRPV channels: Effects on TRPV3 and TRPV4 and their potential relevance to gastrointestinal inflammation. *Acta Physiologica* **204**:255–266.
- Densantis F, Cerruti N, Warner P. 2013. Hemp Agronomic and Cultivation. Pages 98–124 in Bouloc P, Allergret S, Arnaud L editors, *Hemp: Industrial Production and Uses*. CABI. Wallingford.
- Díaz-Alonso J et al. 2016. VCE-003.2, a novel cannabigerol derivative, enhances neuronal progenitor cell survival and alleviates symptomatology in murine models of Huntington’s disease. *Scientific Reports* **6**:29789.
- Dorm D. 2023. Cannabichromene (CBC) Shows Promise In Treating Cancer. *Medical Jane*. Available from <https://www.medicaljane.com/2013/08/14/cannabichromene-cbc-is-the-most-disregarded-cannabinoid/> (accessed January 2023).
- Durst R, Danenberg H, Gallily R, Mechoulam R, Meir K, Grad E, Beeri R, Pugatsch T, Tarsish E, Lotan C. 2007. Cannabidiol, a nonpsychoactive *Cannabis* constituent, protects against myocardial ischemic reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **293**:98.
- Eichhorn Bilodeau S, Wu B-S, Ruffykiri A-S, MacPherson S, Lefsrud M. 2019. An update on plant photobiology and implications for cannabis production. *Frontiers in Plant Science* **10**:296.
- ElSohly MA, Slade D. 2005. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences* **78**:539–548.
- Emboden WA. 1974. *Cannabis* – a polytypic genus. *Economic Botany* **28**:304–310.
- Erkelens JL, Hazekamp A. 2014. That which we call indica, by any other name would smell as sweet. *Cannabinoids* **9**(1):9–15.

- Erridge S, Mangal N, Salazar O, Pacchetti B, Sodergren MH. 2020. Cannflavins – from plant to patient: A scoping review. *Fitoterapia* **146**:104712.
- Farag S, Kayser O. 2015. Cultivation and breeding of *Cannabis sativa* L. for preparation of standardized extracts for medicinal purposes. Pages 165–186 in Máthé Á, editor, *Medicinal and Aromatic Plants of the World*. Springer, Dordrecht.
- Flores-Sanchez IJ, Verpoorte R. 2008. Secondary metabolism in Cannabis. *Phytochemistry Reviews* **7**:615–639.
- Fouad AA, Al-Mulhim AS, Jresat I. 2012. Cannabidiol treatment ameliorates ischemia/reperfusion renal injury in rats. *Life Sciences* **91**:284–292.
- García C et al. 2018. Benefits of VCE-003.2, a cannabigerol quinone derivative, against inflammation-driven neuronal deterioration in experimental parkinson’s disease: Possible involvement of different binding sites at the PPAR γ receptor. *Journal of Neuroinflammation* **15**:19.
- Gaudreau S, Missihoun T, Germain H. 2020. Early topping: An alternative to standard topping increases yield in cannabis production. *Plant Science Today* **7**:627–630.
- Gershenzon J. 1984. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. Pages 273–320 in Timmermann BN, Steelink C, Loewus FA, editors. *Phytochemical Adaptations to Stress. Recent Advances in Phytochemistry*. Springer. Boston.
- Gertsch J, Leonti M, Raduner S, Racz I, Chen J-Z, Xie X-Q, Altmann K-H, Karsak M, Zimmer A. 2008. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**:9099–9104.
- Gertsch J, Pertwee RG, Di Marzo V. 2010. Phytocannabinoids beyond the *Cannabis* plant - do they exist?. *British Journal of Pharmacology* **160**:523–529.
- Gloss D. 2015. An overview of products and bias in Research. *Neurotherapeutics* **12**:731–734.
- Gonçalves J, Rosado T, Soares S, Simão A, Caramelo D, Luís Â, Fernández N, Barroso M, Gallardo E, Duarte A. 2019. Cannabis and its secondary metabolites: Their use as therapeutic drugs, toxicological aspects, and analytical determination. *Medicines* **6**:31.
- Gorelick J, Bernstein N. 2017. Chemical and physical elicitation for enhanced cannabinoid production in cannabis. Pages 439–456 in Chandra S, Lata H, Elsohly MA, editors. *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology. Springer International Publishing.
- Granja AG et al. 2012. A cannabigerol quinone alleviates neuroinflammation in a chronic model of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology* **7**:1002–1016.
- Hammond CT, Mahlberg PG. 1973. Morphology of glandular hairs of cannabis sativa from scanning electron microscopy. *American Journal of Botany* **60**:524–528.

- Hassan BAR. 2012. Medicinal plants (importance and uses). *Pharmaceutica Analytica Acta* **3**:139.
- Hawley D, Graham T, Stasiak M, Dixon M. 2018. Improving cannabis bud quality and yield with subcanopy lighting. *HortScience* **53**:1593–1599.
- Hayakawa K et al. 2008. Cannabidiol prevents a post-ischemic injury progressively induced by cerebral ischemia via a high-mobility group box1-inhibiting mechanism. *Neuropharmacology* **55**:1280–1286.
- Hayward HE. 1938. The structure of economic plants. Macmillan Co., New York
- Hazekamp A, Fishedick JT. 2012. Cannabis – from cultivar to Chemovar. *Drug Testing and Analysis* **4**:660–667.
- Hazekamp A, Tejkalová K, Papadimitriou S. 2016. Cannabis: From cultivar to Chemovar II—a metabolomics approach to cannabis classification. *Cannabis and Cannabinoid Research* **1**:202–215.
- Hejnák V, Hnilička F, Zámečník J, Zámečníková B. 2008. *Fyziologie Rostlin. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.*
- Hillig KW. 2005. Genetic evidence for speciation in cannabis (*Cannabaceae*). *Genetic Resources and Crop Evolution* **52**:161–180.
- Chandra S, Lata H, ElSohly MA, Walker LA, Potter D. 2017a. Cannabis cultivation: Methodological issues for obtaining medical-grade product. *Epilepsy & Behavior* **70**:302–312.
- Chandra S, Lata H, Khan IA, Elsohly MA. 2008. Photosynthetic response of *Cannabis sativa* L. to variations in photosynthetic photon flux densities, temperature and CO₂ conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants* **14**:299–306.
- Chandra S, Lata H, Khan IA, ElSohly MA. 2017a. *Cannabis sativa* L.: Botany and Horticulture. Pages 79–100 in: Chandra S, Lata H, Elsohly MA, editors. *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology. Springer International Publishing.
- Chandra S, Lata H, Mehmedic Z, Khan I, ElSohly M. 2009. Assessment of cannabinoids content in micropropagated plants of *cannabis sativa* and their comparison with conventionally propagated plants and mother plant during developmental stages of growth. *Planta Medica* **76**:743–750.
- ISOP. 2023. Karta druhu: *Cannabis ruderalis*. Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky. Available from https://portal.nature.cz/publik_syst/nd_nalez-public.php?idTaxon=35923 (accessed January 2023).
- Izzo AA, Capasso R, Aviello G, Borrelli F, Romano B, Piscitelli F, Gallo L, Capasso F, Orlando P, Di Marzo V. 2012. Inhibitory effect of cannabichromene, a major non-psychoactive cannabinoid extracted from cannabis sativa, on inflammation-induced hypermotility in mice. *British Journal of Pharmacology* **166**:1444–1460.

- Ježek M. 2021. Zmírnění právní regulace pěstování a distribuce konopí v České republice. Ecovis. Available from: https://www.ecovislegal.cz/aktuality/zmirneni-pravni-regulace-pestovani-a-distribuce-konopi-v-ceske-republice/?fbclid=IwAR3PvCicbcUAemLN6W8k1CBuZCK9WuQ4gW-Gx9cz-3Ab8E-XN9bzJniq_oA (accessed March 2023).
- Jin D, Dai K, Xie Z, Chen J. 2020. Secondary metabolites profiled in cannabis inflorescences, leaves, stem barks, and roots for medicinal purposes. *Scientific Reports* **10**:3309.
- Kaczorová D, Béresa T, Čavar Zeljkovića S, Bjelková M, Kuchař M, Tarkowski P. 2020. O konopí bez předsudků. *Chemické Listy* **114**(4) 277–284.
- Kocourková B, Pluhařová H, Růžičková G. 2014. Pěstování speciálních plodin. Mendelova univerzita v Brně. Brno.
- Lamarck JB. 1785. *Encyclopedique Meethodique deBotanique*, vol. 1, Pt. 2. Paris, France.
- Landa L, Juřica J. 2020. *Léčebné Konopí v Současné Medicínské Praxi*. Grada Publishing, Praha.
- Ledbetter MC, Krikorian AD. 1975. Trichomes of *Cannabis sativa* as viewed with scanning electron microscope. *Phytomorphology* **25**:166–176.
- Lee W-S, Erdelyi K, Matyas C, Mukhopadhyay P, Varga ZV, Liaudet L, Haskó G, Čiháková D, Mechoulam R, Pacher P. 2016. Cannabidiol limits T cell-mediated chronic autoimmune myocarditis: Implications to autoimmune disorders and organ transplantation. *Molecular Medicine* **22**:136–146.
- Ligresti A, Moriello AS, Starowicz K, Matias I, Pisanti S, De Petrocellis L, Laezza C, Portella G, Bifulco M, Di Marzo V. 2006. Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **318**:1375–1387.
- Malfait AM, Gallily R, Sumariwalla PF, Malik AS, Andreacos E, Mechoulam R, Feldmann M. 2000. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**:9561–9566.
- Malík M, Velechovský J, Tlustoš P. 2021. The overview of existing knowledge on medical cannabis plants growing. *Plant, Soil and Environment* **67**:425–442.
- McPartland JM, Guy GW. 2017. Models of cannabis taxonomy, cultural bias, and conflicts between scientific and vernacular names. *The Botanical Review* **83**:327–381.
- McPartland JM. 2017. *Cannabis sativa* and *Cannabis indica* versus “Sativa” and “Indica.”. Pages 101–121 in. Chandra S, Lata H, Elsohly MA, editors. *Cannabis sativa L. - Botany and Biotechnology*. Springer International Publishing.
- Mithöfer A, Boland W. 2012. Plant defense against herbivores: Chemical Aspects. *Annual Review of Plant Biology* **63**:431–450.

- Moliterni VM, Cattivelli L, Ranalli P, Mandolino G. 2004. The sexual differentiation of *Cannabis sativa* L.: A morphological and molecular study. *Euphytica* **140**:95–106.
- Mukhopadhyay P et al. 2011. Cannabidiol protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by attenuating inflammatory signaling and response, oxidative/nitrative stress, and cell death. *Free Radical Biology and Medicine* **50**:1368–1381.
- Nachnani R, Raup-Konsavage WM, Vrana KE. 2020. The pharmacological case for Cannabigerol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **376**:204–212.
- NCI Thesaurus. 2023. Cannabinol (Code C84510). U.S. Department of Health and Human Services. Available from https://ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=ncit&code=C84510 (accessed January 2023).
- Pacher P, Kogan NM, Mechoulam R. 2020. Beyond THC and endocannabinoids. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **60**:637–659.
- Pal PK, Mahajan M. 2017. Pruning system and foliar application of MgSO₄ alter yield and secondary metabolite profile of *Rosa damascena* under rainfed acidic conditions. *Frontiers in Plant Science* **8**:507.
- Peč J. 2013. Konopí aneb THC, CBD, CB1, CB2 atp.. *Praktické lékařství* **9**(3): 131–134.
- Piomelli D, Russo EB. 2016. The *Cannabis sativa* versus *Cannabis indica* Debate: An interview with Ethan Russo, MD. *Cannabis and Cannabinoid Research* **1**(1):44–46.
- Potter D. 2004. Growth and morphology of medicinal cannabis. Pages 17-54 in Guy GW, Whittle BA, Robson P editors. *Medicinal Uses of Cannabis and Cannabinoids*. Pharmaceutical Press. London.
- 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.
- Radušienė J, Karpavičienė B, Stanius Ž. 2012. Effect of external and internal factors on secondary metabolites accumulation in St. John's wort. *Botanica Lithuanica* **18**(2):101–108.
- Rajesh M et al. 2010. Cannabidiol attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, fibrosis, and inflammatory and cell death signaling pathways in diabetic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* **56**:2115–2125.
- Raman V, Lata H, Chandra S, Khan IA, ElSohly MA. 2017. Morpho-anatomy of marijuana (*Cannabis sativa* L.). Pages 123–136 in Chandra S, Lata H, Elsohly MA, editors. *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology. Springer International Publishing.
- Razumova OV, Alexandrov OS, Divashuk MG, Sukhorada TI, Karlov GI. 2015. Molecular cytogenetic analysis of monoecious hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars reveals its karyotype variations and sex chromosomes constitution. *Protoplasma* **253**:895–901.

- Rea KA, Casaretto JA, Al-Abdul-Wahid MS, Sukumaran A, Geddes-McAlister J, Rothstein SJ, Akhtar TA. 2019. Biosynthesis of cannflavins A and B from *Cannabis sativa* L. *Phytochemistry* **164**:162–171.
- Reichel P, Munz S, Hartung J, Präger A, Kotiranta S, Burgel L, Schober T, Graeff-Hönniger S. 2021. Impact of Three Different Light Spectra on the Yield, Morphology and Growth Trajectory of Three Different *Cannabis sativa* L. Strains. *Plants* **10**:1866.
- Roberto K. 2005. How-to hydroponics: The complete guide to building and operating your own indoor and outdoor hydroponic gardens. Futuregarden Press, Farmingdale, NY.
- Rodriguez-Morrison V, Llewellyn D, Zheng Y. 2021. Cannabis yield, potency, and leaf photosynthesis respond differently to increasing light levels in an indoor environment. *Frontiers in Plant Science* **12**:646020.
- Roussis I, Bilalis D, Papastylianou P, Kakabouki I, Mavroeidis A, Stavropoulos P. 2022. Effect of Topping on Growth Development and CBD Content of Hemp (*Cannabis sativa* L.) in Pot Culture. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture* **79**:78-82.
- Ružovič T, Špakovská K. 2015. Potenciál technického konopí v ochraně životního prostředí. Vysoká škola báňská – Technická univerzita v Ostravě. Available from <http://trawa.cz/wp-content/uploads/2015/04/Ruzovic-Spakovska-Potenci%C3%A1l-vyu%C5%BEit%C3%AD-technick%C3%A9ho-konop%C3%AD.pdf> (accessed January 2023).
- SAKL. 2023. Konopí. SAKL. Available from <https://www.sakl.cz/konopi/> (accessed January 2023).
- Saloner A, Bernstein N. 2021. Nitrogen supply affects cannabinoid and terpenoid profile in medical cannabis (*Cannabis sativa* L.). *Industrial Crops and Products* **167**:113516.
- Sanchita G, Sharma A. 2018. Gene expression analysis in medicinal plants under abiotic stress conditions. Pages 407–414 in Ahmad P, Ahanger MA, Singh VP, Tripathi DK, Alam P, Alyemeni MN, editors. *Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress*. Academic Press.
- Santos Tozin LR, de Melo Silva SC, Rodrigues TM. 2016. Non-glandular trichomes in Lamiaceae and Verbenaceae species: Morphological and histochemical features indicate more than physical protection. *New Zealand Journal of Botany* **54**:446–457.
- Sbírka zákonů Česká republika. 2021. Tiskárna Ministerstva vnitra. Praha.
- Schultes RE, Klein WM, Plowman T, Lockwood TE. 1974. *Cannabis*: An example of taxonomic neglect. *Botanical Museum leaflets, Harvard University* **23**:337–367.
- Silvestri C, Paris D, Martella A, Melck D, Guadagnino I, Cawthorne M, Motta A, Di Marzo V. 2015. Two non-psychoactive cannabinoids reduce intracellular lipid levels and inhibit hepatosteatosis. *Journal of Hepatology* **62**:1382–1390.

- Simiyu DC, Jang JH, Lee OR. 2022. Understanding *Cannabis sativa* L.: Current status of propagation, use, legalization, and haploid-inducer-mediated genetic engineering. *Plants* **11**:1236.
- Slavíková K. 2022. Rečnické konopí a výrobky z něj na trhu v ČR legálně k prodeji? Aneb ohlednutí za uplynulým rokem z hlediska konopné legislativy. Havel & Partners. Available from <https://www.havelpartners.blog/technicke-konopi-a-vyrobky-z-nej-na-trhu-v-cr-legalne-k-prodeji-aneb-ohlednuti-za-uplynulym-rokem-z-hlediska-konopne-legislativy> (accessed March 2023).
- Small E, Cronquist A. 1976. A practical and natural taxonomy for cannabis. International Bureau for Plant Taxonomy and Nomenclature, Utrecht, Netherlands.
- SÚKL. 2023. Konopí pro léčebné použití. SÚKL. Available from <https://www.sukl.cz/konopi-pro-lecebne-pouziti> (accessed January 2023).
- Sun J. 2007. D-Limonene: safety and clinical applications. *Alternative Medicine Review*. **12** (3) 259–264.
- Šnobl J. 2004. Rostlinná výroba IV. (Chmel, len, konopí, využití biomasy k energetickým účelům). Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Tóth Š, Sikora V, Kovařová L, Harcar M, Porvaz P. 2015. Wild Hemp *Cannabis ruderalis* Janisch and Sugar Beet. *Listy Cukrovarnické a Řepařské* **131**(9-10):292–294.
- Turner C, Elsohly M. 1981. Biological activity of cannabichromene, its homologs and isomers. *The Journal of Clinical Pharmacology* **21**:283–291.
- Turner CE, Elsohly MA, Boeren EG. 1980. Constituents of *Cannabis sativa* L. XVII. A review of the natural constituents. *Journal of Natural Products* **43**:169–234.
- UNODC. 2006. Bulletin on Narcotics Review of the world cannabis. Situation United Nations Publications, Vienna.
- UNODC. 2022. Recommended methods for the identification and analysis of Cannabis and Cannabis products. United Nations Publications, Vienna.
- Vanhove W, Van Damme P, Meert N. 2011. Factors determining yield and quality of illicit indoor cannabis (*Cannabis* spp.) production. *Forensic Science International* **212**:158–163.
- Vavilov NI. 1926. Studies on the Origin of Cultivated Plants. Institute of Applied Botany and Plant Breeding, Leningrad.
- Verpoorte R, Contin A, Memelink J. 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews* **1**:13–25.
- Vieira AJ, Beserra FP, Souza MC, Totti BM, Rozza AL. 2018. Limonene: Aroma of innovation in health and disease. *Chemico-Biological Interactions* **283**:97–106.

- Wanas A, Radwan M, Mehmedic Z, Jacob M, Khan I, Elsohly M. 2016. Antifungal activity of the volatiles of high potency *Cannabis sativa* L. Against *Cryptococcus neoformans*. *Records of Natural Products*. **10**:214–220.
- Weiss L, Zeira M, Reich S, Slavin S, Raz I, Mechoulam R, Gallily R. 2008. Cannabidiol arrests onset of autoimmune diabetes in Nod mice. *Neuropharmacology* **54**:244–249.
- Yep B, Gale NV, Zheng Y. 2020. Comparing hydroponic and aquaponic rootzones on the growth of two drug-type *Cannabis sativa* L. cultivars during the flowering stage. *Industrial Crops and Products* **157**:112881.
- Yep B, Zheng Y. 2019. Aquaponic trends and challenges – A Review. *Journal of Cleaner Production* **228**:1586–1599.
- Yeshurun M et al. 2015. Cannabidiol for the prevention of graft-versus-host-disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation: Results of a phase II study. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* **21**:1770–1775.
- Zagožen M, Čerenak A, Kreft S. 2020. Cannabigerol and cannabichromene in *Cannabis sativa* L. *Acta Pharmaceutica* **71**:355–364.
- Zákony pro lidi. 2023. Zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. AION CS 2010-2023. Available from <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1998-167> (accessed March 2023).
- Zhang M, Zhao Y, Shi H. 2023. Topping and grafting affect the alkaloid content and gene expression patterns of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Plant Direct* **7**:478.
- Zheng Z, Fiddes K, Yang L. 2021. A narrative review on environmental impacts of cannabis cultivation. *Journal of Cannabis Research* **3**:35.
- Žuk-Gołaszewska K, Gołaszewski J. 2018. *Cannabis sativa* L. – cultivation and quality of raw material. *Journal of Elementology* **23**(3):971–984.

9 Seznam obrázků a tabulek

Tabulka 1: Obsah živin v živném roztoku v průběhu pěstování (mg/l) EC (mS/cm)	34
Obrázek 1: Popis rostliny. A = květenství samčí rostliny, B = plodící samičí rostlina, 1 = květ s tyčinkami; 2 = tyčinky, 3 = tyčinky, 4 = pylová zrna, 5 = pestík s listenem, 6 = pestík bez listenu, 7 = řez pestíkem, 8 = semeno s listenem, 9 = semeno 10= semeno ze strany, 11 = příčný řez semenem, 12 = podélný řez semenem, 13 = semeno bez oplodí (Zdroj: UNODC 2022)	15
Obrázek 2: Vyobrazení druhů konopí dle polytypického konceptu taxonomického rozdělení. Zprava: Cannabis sativa, Cannabis indica, Cannabis ruderalis (Zdroj: McPartland 2018)	16
Obrázek 3: Struktura deseti hlavních podtříd kannabinoidů v rostlinách konopí. (Zdroj: Flores-Sanchez & Verpoorte 2008)	21
Obrázek 4: Schéma biosyntézy kanabinoidů v rostlinách konopí. CBGA = kanabigerolová kyselina, CBCA = kanabichromenová kyselina, CBD = kanabidiolová kyselina, delta-9-THCA = delta-9-tetrahydrokanabinolová kyselina, delta-8-THCA = delta-8-tetrahydrokanabinolová kyselina, CBNA = kanabinolová kyselina, CBTA = kanabitriolová kyselina, CBNDA = kanabinodiolová kyselina, CBLA = kanabicyklolová kyselina, CBEA = kanabielsoová kyselina, CBGVA = kanabigerovarínová kyselina, CBCVA = kanabichromevarínová kyselina, CBDVA = kanabidivarínová kyselina, THCVA = tetrahydrokanabivarínová kyselina. (Zdroj: Kaczorová et al 2020)	23
Obrázek 5: Příklady izolovaných terpenů v konopí (Zdroj: Flores-Sanchez & Verpoorte 2008)	26
Obrázek 6: Schéma syntézy terpenů v rostlinách konopí. IPP = isopentenyldifosfát, GPP = Geranylpyrofosfát, FPP = Farnesylpyrofosfát, GGPP = Geranylgeranylpyrofosfát, Skvalen (Zdroj: Flores-Sanchez & Verpoorte 2008)	27
Obrázek 7: Znázornění vlivu jednotlivých mechanických zásahů na habitus rostlin konopí v období dozrání sekundárních metabolitů v porovnání s kontrolou. (BBLR = odstranění spodních větví a listů) (Zdroj: Danziger & Bernstein 2021a)	32
Obrázek 8: Rozložení rostlin na pěstebním stole	35
Obrázek 9: Průměrný výnos suché hmoty rostlin v 8. týdnu pěstebním týdnem mezi variantou s odstraněným vrcholem a neošetřenou rostlinou. Data jsou průměry ± SE (n=3). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$	38
Obrázek 10: Průměrný výnos suché hmoty jednotlivých částí rostlin v 9. pěstebním týdnem mezi variantou s odstraněným vrcholem a neošetřenou rostlinou. Data jsou průměry ± SE (n=3). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$	39
Obrázek 11: Obsah THCA (%) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnem. Data jsou průměry ± SE (n=3). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$	40

Obrázek 12: Výtěžek THCA (g) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE (n=3). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$	41
Obrázek 13: Obsah CBNA (%) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE (n=3). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$	42
Obrázek 14: Obsah limonenu (mg/kg) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE (n=3). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$	43
Obrázek 15: Obsah β -karyofylenu (mg/kg) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE (n=3). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$	44
Obrázek 16: Obsah Cannflavinu A (mg/kg) v rostlinách bez odstraněného apikálního vrcholu a odstraněným vrcholem v 8. a 9. pěstebním týdnu. Data jsou průměry \pm SE (n=3). Písmena zobrazují statistickou významnost podle Tukeyho HSD testu; $\alpha = 0,05$	45