Střední průmyslová škola Třebíč

Manželů Curieových 734, 674 01 Třebíč

Maturitní práce

VLIV BIOFUNGICIDU NA BOTRYTIS A ERYSIPHACEAE U KONOPÍ

Profilová část maturitní zkoušky

Studijní obor: Technické lyceum

Třída: TLA 4

Školní rok: 2025/2026 Filip Yao

SPŠT Střední průmyslová škola Třebíč
Manželů Curieových 734, 674 01 Třebíč

Zadání ročníkové práce

Obor studia: **78-42-M/01 Technické lyceum**

Jméno a příjmení:	**Filip Yao**		
Třída:	**TLA4**	Školní rok:	**2025/26**
Číslo tématu:	**2**		
Název tématu:	**Vliv biofungicidu na Botrytis a Erysiphaceae u konopí**		
Rozsah práce:	**15 - 25 stránek textu**		

Specifické úkoly, které tato práce řeší:

Zaměřit se na vliv biofungicidu na prevenci a supresi infekce Botrytis cinerea a přirozeného výskytu Erysiphaceae u rostlin Cannabis sativa.

Termín odevzdání:	**29. března 2026, 23.00**
Vedoucí projektu:	**Mgr. Zuzana Bobková**
Oponent:	**Mgr. Josef Bobek**
Schválil:	**Ing. Petra Hrbáčková, ředitelka školy**

ABSTRAKT

Cílem širší studie je vyhodnotit vliv aplikace fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu na prevenci a potlačení infekce způsobené houbou Botrytis cinerea (šedá plíseň) a přirozeného výskytu čeledi Erysiphaceae (padlí) u rostlin *Cannabis sativa* L. Dále bude zkoumán vliv těchto přípravků na produkci a množství kanabinoidů pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS). Výsledky této práce přispějí k posouzení, zda aplikace uvedeného přípravku může ovlivnit profil kanabinoidů a tím i chemické složení rostlinného materiálu.

KLÍČOVÁ SLOVA

biofungicid; Botrytis cinerea; Erysiphaceae; *Cannabis sativa* L.; biologická ochrana; antimikrobiální metabolity; indukovaná systémová rezistence; fytopatogenní houby; mikrobiální antagonisté; integrovaná ochrana rostlin

ABSTRACT

The aim of the broader study is to evaluate the effect of fennel oil and yeast lysate application on the prevention and suppression of infection caused by the fungus *Botrytis cinerea* (grey mould) and the natural occurrence of the family Erysiphaceae (powdery mildew) in *Cannabis sativa* L. Furthermore, the influence of these preparations on the production and quantity of cannabinoids will be investigated using ultra-high performance liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry (U-HPLC-HRMS). The results of this work will contribute to assessing whether the application of the aforementioned preparation can affect the cannabinoid profile and thus the chemical composition of the plant material.

KEYWORDS

biofungicide; *Botrytis cinerea*; Erysiphaceae; *Cannabis sativa* L.; biological control; antimicrobial metabolites; induced systemic resistance; phytopathogenic fungi; microbial antagonists; integrated plant protection

摘要

本研究的更广泛目标是评估茴香油和酵母裂解物的施用对 Cannabis sativa L. 植株中灰葡萄孢菌（Botrytis cinerea，灰霉病）感染的预防和抑制，以及白粉菌科（Erysiphaceae，白粉病）自然发生的影响。此外，还将利用超高效液相色谱-高分辨率质谱联用技术（U-HPLC-HRMS）研究这些制剂对大麻素产量和含量的影响。本研究成果将有助于评估上述制剂的施用是否会影响大麻素谱，进而影响植物材料的化学组成。

关键词

生物杀菌剂；灰葡萄孢菌；白粉菌科；大麻（Cannabis sativa L.）；生物防治；抗菌代谢物；诱导系统抗性；植物病原真菌；微生物拮抗剂；植物综合保护

ABSTRACT

Das Ziel der umfassenderen Studie ist die Bewertung des Einflusses der Anwendung von Fenchelöl und Heflysat auf die Prävention und Unterdrückung einer Infektion durch den Pilz Botrytis cinerea (Grauschimmel) sowie des natürlichen Vorkommens der Familie Erysiphaceae (Echter Mehltau) bei Pflanzen der Art Cannabis sativa L. Darüber hinaus wird der Einfluss dieser Präparate auf die Produktion und den Gehalt von Cannabinoiden mittels Ultra-Hochleistungsflüssigchromatographie in Kombination mit hochauflösender Massenspektrometrie (U-HPLC-HRMS) untersucht. Die Ergebnisse dieser Arbeit werden dazu beitragen, zu beurteilen, ob die Anwendung des genannten Präparats das Cannabinoidprofil und damit die chemische Zusammensetzung des Pflanzenmaterials beeinflussen kann.

SCHLÜSSELWÖRTER

Biofungizid; Botrytis cinerea; Erysiphaceae; Cannabis sativa L.; biologischer Pflanzenschutz; antimikrobielle Metaboliten; induzierte systemische Resistenz; phytopathogene Pilze; mikrobielle Antagonisten; integrierter Pflanzenschutz

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych upřímně poděkoval své školitelce **Ing. Zuzaně Bínové** a paní učitelce **Mgr. Zuzaně Bobkové** za jejich obětavou pomoc, cenné rady a laskavé vedení. Paní **prof. Ing. Janě Pulkrabové, Ph.D**., děkuji za poskytnutí výzkumného zázemí na VŠCHT Praha a zprostředkování spolupráce s AV ČR.

Můj nejhlubší dík patří mé **rodině** za bezmeznou lásku a podporu, bez níž by tato práce nevznikla. Závěrem s vděčností děkuji svým dvěma domovům **České republice a Číně** za kulturní zázemí a inspiraci, které mě formovaly a dovedly až k úspěšnému dokončení tohoto cíle.

谨在此向我的导师 Zuzana Bínová（工程师）以及 Zuzana Bobková 老师（硕士）致以最诚挚的谢意，感谢她们无私的帮助、宝贵的建议与悉心的指导。同时，感谢 Jana Pulkrabová 教授（博士）为我在布拉格化工大学（VŠCHT Praha）提供研究设施，并促成与捷克科学院（AV ČR）的合作。

我还要向我的家人致以最深切的感激，感谢他们给予我无尽的爱与支持。若无他们的付出，本论文便无法顺利完成。最后，我要满怀感激地向捷克共和国与中国这两个家园致谢，感谢它们赋予我的文化底蕴与灵感，正是这些塑造了我，并指引我成功达成这一目标。





V Třebíči dne 14. března 2026 podpis autora



PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně a uvedl v ní všechny prameny, literaturu a ostatní zdroje, které jsem použil.

V Třebíči dne 14.března 2026 podpis autora



Obsah

Úvod..... 10

1 Biofungicidy.....11

2 Cannabis..... 12

2.1 Taxonomie.....12

2.2 Původ a fylogeografie.....12

2.3 Konopí seté (Cannabis sativa).....12

2.3.1 Průmyslové využití.....12

2.3.2 Semena a olej.....13

2.3.3 Léčebné využití.....13

2.3.4 Legislativní rámec v ČR.....13

2.4 Konopí indické (*Cannabis indica Lam.*).....14

2.5 Konopí rumištní (Cannabis sativa var. ruderalis).....15

***3* Problematika patogenů u *Cannabis sativa*.....17**

3.1 Nejčastější choroby konopí.....17

3.2 Přirozená obrana konopí proti patogenům.....17

4 Chemické složení konopí, kanabinoidy.....19

5 Vliv stresu a chorob na produkci kanabinoidů.....23

5.1 Obecné znaky.....23

5.2 Abiotický stres.....23

5.3 Biotický stres.....24

5.4 Stres, hormony a regulace biosyntézy kanabinoidů.....24

6 Analytické metody stanovení kanabinoidů.....26

6.1 Kapalinová chromatografie (LC).....26

6.2 Plynová chromatografie (GC).....26

6.2.1 Dekarboxylace a zásadní omezení metody....26
6.3 Hmotnostní spektrometrie (MS)....27
6.3.1 Limity metody....28
7 Materiál....29
8 Příprava vzorků....30
9 Kalibrace a standardy....33
9.1 Analytické standardy....33
9.2 Příprava zásobních roztoků standardů....33
9.3 Příprava kalibrační řady....33
9.4 Identifikace a kvantifikace analytů....34
10 Podmínky UPLC analýzy....35
11 Zpracování dat....36
12 Výsledky....38
12.1 Celkový fytokanabinoidní profil....38
12.2 Celkový obsah fytokanabinoidů....39
12.3 Statistická analýza – přehled....40
12.4 CBDA a CBD – dominantní kanabinoidy....42
12.5 Minoritní kanabinoidy se statisticky významnou odezvou....43
12.5.1 CBNA....43
12.5.2 CBCA....45
12.5.3 CBG....45
12.5.4 Δ9-THCA-A....46
12.5.5 cis-Δ9-THC....47
12.5.6 CBGA....48
12.6 Kanabinoidy bez statisticky významných rozdílů....49
13 Diskuse....50

Závěr..... **52**

Seznam použitých zdrojů..... **54**

Seznam použitých symbolů a zkratek..... **56**

Seznam obrázků..... **60**

Seznam tabulek..... **61**

Seznam příloh..... **62**

Úvod

Tato práce vznikla v rámci spolupráce Vysoké školy chemicko technologické v Praze a Botanického ústavu AV ČR a zaměřuje se především na stanovení obsahu kanabinoidů v rostlinném materiálu konopí setého *Cannabis sativa* L. Hlavním cílem je kvantifikovat vybrané kanabinoidy pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS) a popsat rozdíly v jejich koncentracích mezi jednotlivými vzorky.

Rostliny konopí byly v Botanickém ústavu vystaveny různým experimentálním podmínkám v rámci pokusu s využitím fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu, které jsou zkoumány jako možné přírodní prostředky ochrany proti houbovým patogenům, zejména *Botrytis cinerea* a zástupcům čeledi Erysiphaceae. V této práci však tyto látky představují pouze kontext experimentu. Hlavní pozornost je věnována analýze a porovnání kanabinoidního profilu jednotlivých vzorků.

Cílem práce je poskytnout přesná analytická data o obsahu klíčových kanabinoidů, která mohou sloužit jako podklad pro porovnání jednotlivých experimentálních variant rostlin a pro posouzení možných změn kanabinoidního profilu v souvislosti s aplikací zkoumaných přípravků a inokulací patogenem.

1 Biofungicidy

Biofungicidy představují ekologicky šetrnou alternativu k syntetickým fungicidům v ochraně rostlin. Tento termín zahrnuje dva hlavní typy biologických pesticidů používaných v ochraně rostlin: mikrobiální pesticidy a biochemické pesticidy.

Mikrobiální pesticidy jsou živé mikroorganismy, jako jsou bakterie, houby nebo kvasinky, které působí jako antagonisté škodlivých patogenů. Tyto mikroorganismy mohou potlačovat růst choroboplodných činitelů prostřednictvím konkurence o živiny, produkce antibiotických látek nebo přímého parazitismu. [1]

Biochemické pesticidy zahrnují přírodně se vyskytující chemické sloučeniny, které mají fungicidní účinky. Tyto látky jsou často extrahovány z rostlin, mikroorganismů nebo jiných přírodních zdrojů a vyznačují se specifickým mechanismem působení proti patogenům. [1]

Výzkumné studie potvrzují účinnost biofungicidů při kontrole různých rostlinných chorob. Zvláštní pozornost je věnována hubě *Botrytis*, která způsobuje šedou hnilobu a představuje vážný problém jak během vegetačního období na poli, tak při posklizňovém skladování zemědělských produktů. [1]

Mnozí vědci prokázali, že správně aplikované biofungicidy dokážou efektivně omezit výskyt *Botrytis* i dalších patogenních mikroorganismů v obou těchto kritických fázích produkce. Tato biologická ochrana tak nabízí udržitelné řešení pro moderní zemědělství s minimálním dopadem na životní prostředí. [1]

2 Cannabis

Konopí (*Cannabis*) je rod jednoletých dvoudomých bylin z čeledi konopovitých, které pocházejí ze stepí náhorních plošin střední Asie, konkrétně z oblasti Tibetské náhorní plošiny. Jedná se o teplomilnou rostlinu s vzpřímenými lodyhami dosahujícími výšky 2–3 metry, dlanitě složenými listy a jednosemennými nažkami jako plodem. Konopí bylo využíváno v mnoha civilizacích již od neolitu a má tradici sahající nejméně osm tisíc let zpět, kdy se využívalo nejprve jako potravina, později pro výrobu textilií a v tradiční medicíně. [2]

2.1 Taxonomie

O taxonomii konopí se dodnes vedou diskuse. Existují dva hlavní přístupy: monotypický koncept považující Cannabis za jediný druh (Cannabis sativa) s podruhy C. sativa subsp. sativa a *C. sativa subsp. indica*, nebo starší polytypický koncept rozlišující dva až tři samostatné druhy: *C. sativa*, *C. indica a C. ruderalis*. [2]

2.2 Původ a fylogeografie

Konopí pochází ze stepí náhorních plošin střední Asie, konkrétně se podařilo upřesnit původní lokalitu na Tibetskou náhorní plošinu a oblast jezera Čching-chaj-chu (čín. 青海湖, pchin-jin Qīnghǎi Hú). Z této oblasti se rostlina před přibližně 6 miliony let začala šířit směrem do Evropy a před 1,6 miliony let do východní Číny. V různých civilizacích od Asie po Evropu (a posléze Severní Ameriku) bylo konopí využíváno již od neolitu. [2]

2.3 Konopí seté (*Cannabis sativa*)

Konopí seté je charakteristické svým dlouhým, štíhlým stonkem. Jedná se o všestranně využitelnou plodinu s širokým spektrem aplikací. [2]

2.3.1 Průmyslové využití

Nejznámější využití spočívá v textilní výrobě a produkci papíru. Ze stonku se po zpracování namáčením a třením získávají vlákna, která se následně spřádají. Z konopného textilního vlákna se vyrábějí provazce, lana, plachty, rohože i pytle, které jsou velmi pevné a odolné proti vlhkosti a hnilobě. Z krátkých vláken se produkuje

koudel pro utěsňování šroubovaných spojů potrubí. Rostliny pěstované pro vlákno mají dosahovat co největší výšky. Vlákniny tvoří přibližně 25 % rostliny, zbytek představuje dřevitá hmota – pazdeří, které se lisuje bez pojiva do briket pro spalování nebo se využívá jako tepelně izolační materiál.

2.3.2 Semena a olej

Semena obsahují olej bohatý na vitaminy A, D a E. Významný je obsah omega-6 a omega-3 nenasycených mastných kyselin v poměrném zastoupení 3:1, což přibližně odpovídá zastoupení v lidském těle. Olej dále obsahuje mastné kyseliny palmitovou, stearovou, olejovou, linolovou a linolenovou. Vylisovaný olej nachází uplatnění v potravinářství, kosmetice, při výrobě mýdel, mazadel a barev. Pokrutiny zbylé po vylisování slouží jako krmivo. Celá semena jsou pod tradičním názvem „semenec" běžně používána jako krmivo pro ptactvo.

2.3.3 Léčebné využití

Některé kultivary konopí se pěstují pro léčebné účinky související s obsahem kanabinoidů, zejména THC a CBD, případně dalších minoritních kanabinoidů, jako je CBC. Sušené samičí květenství rostliny se označuje jako marihuana, zatímco koncentrovaná pryskyřice je známá jako hašiš.

2.3.4 Legislativní rámec v ČR

Po celosvětovém zákazu pěstování konopí v roce 1961, daném Jednotnou úmluvou Organizace spojených národů o omamných látkách, došlo postupně k vyšlechtění odrůd konopí setého se sníženým obsahem THC. V 80. letech uznala EU pěstování konopí s obsahem různých izomerů látek ze skupiny tetrahydrokanabinolů do 0,3 % pro technické či průmyslové účely, čímž vznikl pojem technické či průmyslové konopí. Na území České republiky se konopí po dobu přibližně 40 let vůbec nepěstovalo a jeho pěstování bylo obnoveno až v roce 1996.

Základní rámec pro pěstování konopí v České republice dlouhodobě upravoval Zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách, který umožňoval pěstování konopí s obsahem THC do 1 % a stanovoval pěstitelům ohlašovací povinnost při osetí plochy nad 100 m².

Od 1. ledna 2026 vstoupila v České republice v platnost významná legislativní změna týkající se konopí. Nejde o plnou legalizaci, novela č. 270/2025 Sb. přináší úpravy trestního zákoníku, zákona o návykových látkách i zákona o léčivech a posouvá českou drogovou politiku směrem k částečné dekriminalizaci. Nově je bez trestního postihu možné pěstovat až tři rostliny konopí na osobu starší 21 let, držet až 100 gramů sušiny doma a až 25 gramů na veřejnosti, přičemž konopí musí být zpracováváno výhradně pro vlastní potřebu. Nadále však zůstávají v platnosti ustanovení zakazující navádění, komerční podporu, sdílení nebo distribuci konopí. Regulovaný prodej ani konopné kluby zákon zatím nezavádí. [2]



Obrázek 1 - Konopí seté (Cannabis sativa) (Zdroj: Wikipedie)

2.4 Konopí indické (*Cannabis indica Lam.*)

Konopí indické vykazuje odlišné morfologické charakteristiky ve srovnání s konopím setým. Je košatější a disponuje širšími listy. Stejně jako konopí seté má na listech trichomy produkující pryskyřici obsahující kanabinoidy, přičemž jejich nejvyšší koncentrace se nachází především v samičích květenstvích, pro která se tato rostlina zejména pěstuje. Léčebné a spirituální využití konopí má v Indii tradici dlouhou tisíce let. Ve spiritualitě indických sádhuů hraje konopí elementární roli [2]



Obrázek 2 - Konopí indické (Cannabis indica Lam.) (Zdroj: Wikipedie)

2.5 Konopí rumištní (*Cannabis sativa var. ruderalis*)

Konopí rumištní (*Cannabis ruderalis*, dle nového taxonomického pojetí *Cannabis sativa var. ruderalis*, tj. poddruh konopí setého) představuje plevelnou rostlinu zavlečenou ze sibiřské oblasti. Dorůstá výšky pouze do 1,5 metru, stonek je tenký, větvený a slabě olistěný. Jedná se o planou formu konopí, u které obsah delta-9-THC není významný. V Evropě se s touto rostlinou běžně setkáváme v Rumunsku či Bulharsku podél cest, ale nalézt ji lze i v České republice – podél řeky Dyje či v oblasti Pálavy. Charakteristickým znakem tohoto druhu je velmi rychlé kvetení, proto se využívá ke šlechtění samonakvétacích odrůd (*autoflowering*), které kvetou během dvou až tří týdnů a dozrávají přibližně za dva až tři měsíce. [2]



Obrázek 3 - Konopí rumištní (Zdroj: Wikipedie)

3 Problematika patogenů u *Cannabis sativa*

3.1 Nejčastější choroby konopí

Nejvýznamnějšími houbovými patogeny konopí (*Cannabis sativa*) jsou šedá plíseň (*Botrytis cinerea*) a padlí (*Erysiphe cichoracearum*, případně *Golovinomyces* spp.). Šedá plíseň, označovaná také jako *gray mould*, je nejzávažnější chorobou konopí, napadající jak technické odrůdy a odrůdy pěstované pro produkci kanabinoidů. Daří se jí v chladném a vlhkém prostředí, kde může během několika dní zničit celé porosty. Projevuje se šedohnědým povlakem mycelia, hnilobou květů i stonků a lámáním rostlin v místě napadení. Obzvlášť citlivé jsou husté samičí květy drogových odrůd, které zadržují vlhkost. Padlí napadá především nadzemní části rostlin, projevuje se bělavým povlakem na listech, který snižuje fotosyntézu, oslabuje rostlinu a zhoršuje kvalitu výnosu. Oba patogeny se snadno šíří sporami ve vlhkém prostředí a napomáhá jim vysoká hustota porostu, nedostatečné proudění vzduchu a stres rostlin. Účinná prevence spočívá v regulaci vlhkosti, zajištění proudění vzduchu a výběru odolných odrůd. [3]

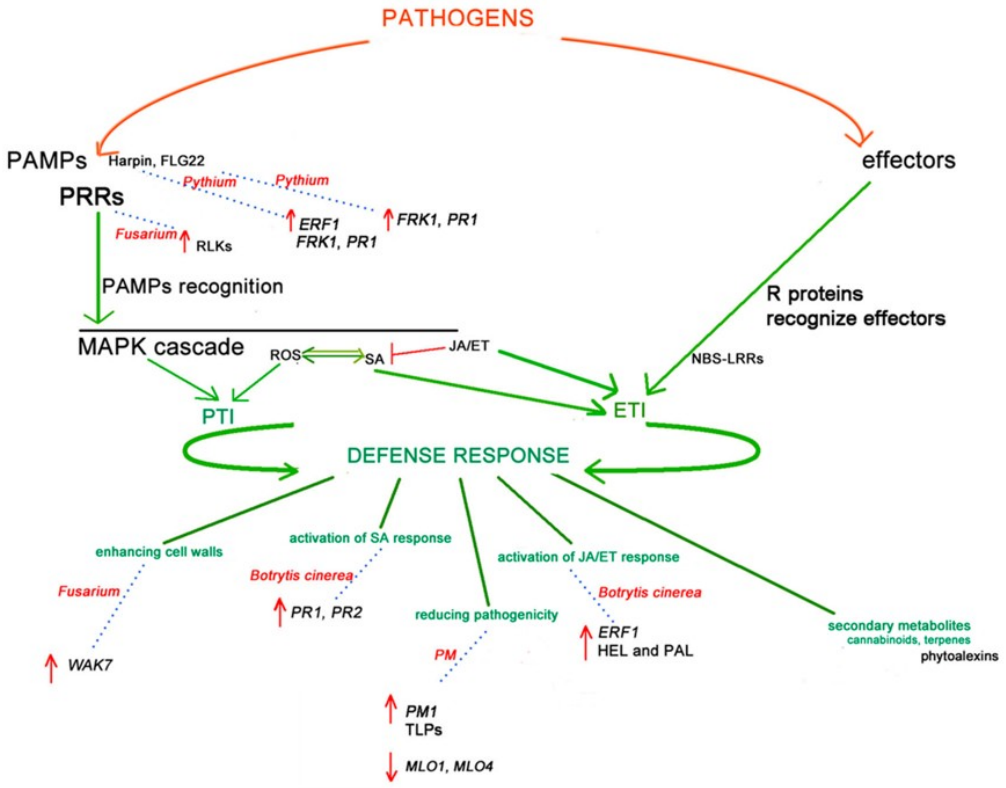
3.2 Přirozená obrana konopí proti patogenům

Konopí *(Cannabis sativa L.)* má několik přirozených mechanismů obrany, které mu pomáhají bránit se proti nejčastějším patogenům, jako jsou padlí (Golovinomyces), Fusarium, Botrytis cinerea nebo Pythium. Základ obrany tvoří vrozená imunita, která funguje tak, že rostlina rozpozná obecné molekulární signály patogenů. Tyto signály spouštějí rychlou reakci rostliny – tvorbu reaktivních forem kyslíku, aktivaci obranných kaskád a zapnutí genů jako PR1, FRK1 nebo ERF1. Některé z těchto obranných genů reagují odlišně podle typu patogenu, například harpin výrazně aktivuje ERF1, zatímco flg22 spíše PR1. Součástí vrozené imunity je také posílení buněčných stěn, což znesnadňuje pronikání patogenů, a zde se například u Fusaria zapojují geny typu WAK7 nebo enzymy posilující strukturu stěn. [4][5]

Druhou úroveň obrany představuje specifická imunita. Pokud patogen pronikne přes první linii, rostlina může rozpoznat jeho specifické efektorové molekuly pomocí konopí byl identifikován první gen rezistence proti padlí, označený jako PM1, který dává rostlině plnou odolnost vůči určitému druhu padlí. Naproti tomu některé geny,

jako například MLO1 a MLO4, dělají rostlinu náchylnější, protože podporují rozvoj padlí. [4][5]

Významnou roli v obraně mají i rostlinné hormony. Salicylová kyselina se uplatňuje hlavně proti biotrofním patogenům a aktivuje geny jako PR1 a PR2. Naopak jasmová kyselina a ethylen se zapojují proti patogenům, kteří zabíjejí pletiva, například proti Botrytis cinerea. U tohoto patogenu byly v konopí prokázány silně aktivované geny ERF1, HEL, PAL, PR1 a PR2. [4][5]



Obrázek 4 - Schéma aktivace obranného genu Cannabis sativa (Zdroj: ResearchGate)

Konopí se brání i chemicky. Produkuje velké množství terpenů, z nichž některé mají antifungální účinky. Některé jsou v rostlině přítomné trvale, jiné se tvoří až po napadení. S tím souvisí například gen mevalonátové dráhy, který může ovlivňovat tvorbu antifungálních seskviterpenů. [4][5]

Celkově lze říct, že obrana konopí je kombinací rychlé vrozené imunity, cílené genetické odpovědi proti specifickým patogenům, hormonální koordinace a produkce ochranných látek. Tento víceúrovňový systém umožňuje rostlině reagovat na různé druhy infekcí a představuje důležitý základ pro budoucí šlechtění odolnějších odrůd. [4][5]

4 Chemické složení konopí, kanabinoidy

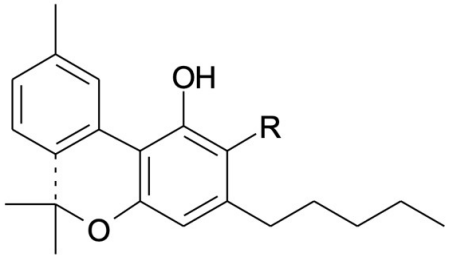
Konopí je chemicky velmi bohatá rostlina – bylo v něm identifikováno přes stovky různých sloučenin, z nichž nejvýznamnější skupinu tvoří více než 120 známých kanabinoidů. Tyto látky jsou unikátní pro tuto rostlinu, neboť se v takové míře a kombinaci nevyskytují v žádném jiném rostlinném druhu.

Samčí i samičí rostliny mají na svém povrchu husté porosty trichomů, které obsahují specializované buňky produkující pryskyřici. Tyto sekrety představují naprostou většinu celkové produkce sekundárních metabolitů konopí. Kanabinoidy lze nalézt prakticky ve všech rostlinných orgánech kromě semen; drobné stopy v semenech se obvykle vysvětlují kontaminací pryskyřicí zachycenou na jejich povrchu. Složení kanabinoidů je v jednotlivých částech rostliny podobné, liší se však jejich koncentrace.

Největší množství kanabinoidů je soustředěno v květních listenových strukturách. Na listech se jejich obsah snižuje a ve stoncích či kořenech bývá již jen minimální. Rostliny pěstované venku mívají obecně nižší koncentrace kanabinoidů než rostliny kultivované v kontrolovaných podmínkách v interiéru. Při vnitřním pěstování mohou rostliny dosahovat výrazně vyšší produkce pryskyřice a obsah kanabinoidů v květech může dosahovat až 25–30 %, a to především ve formě kyselých prekurzorů – zejména THCA, u záměrně šlechtěných odrůd pak také CBDA a případně CBGA. Tak vysoká tvorba jediného či úzké skupiny sekundárních metabolitů je ve světě rostlin poměrně výjimečná.

Hlavní psychoaktivní složkou konopí je Δ^9-tetrahydrokanabinol (Δ^9-THC), chemicky popsaný jako 3-pentyl-6,6,9-trimethyl-6a,7,8,10a-tetrahydro-6H-dibenzo[b,d]pyran-1-ol. Tato látka je přítomna u všech druhů konopí, a to v rozmezí od velmi nízkých hodnot až po dominantní zastoupení, které může tvořit téměř celou kanabinoidní frakci. Δ^9-THC neobsahuje dusík, a proto nepatří mezi alkaloidy, což je u psychoaktivních sloučenin spíše nestandardní.

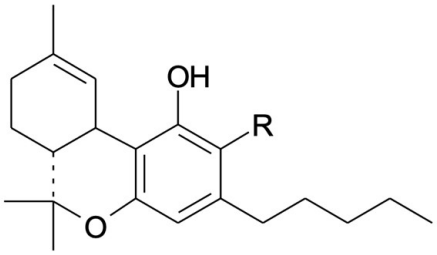
Mezi další významné, ale nepsychoaktivní kanabinoidy patří například CBD, CBC a CBG. Stejně jako Δ^9-THC obsahují pentylový postranní řetězec, avšak mohou se vyskytovat i jejich varianty s kratším – propylovým – řetězcem, například CBDV, CBCV, CBGV nebo THCV. Tyto formy jsou však v rostlině zastoupeny méně často.



R = H: kanabinol (CBN)

R = COOH: kanabinolová kyselina (CBNA)

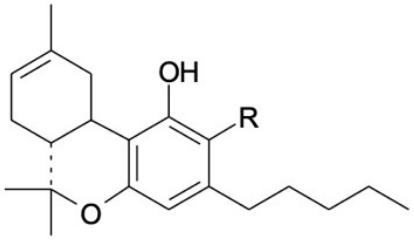
Obrázek 5 - Strukturní vzorce CBN



R = H: Δ^9 - tetrahydrokanabinol (Δ^9- THC)

R = COOH: Δ^9 - tetrahydrokanabinolová kyselina A (Δ^9 -THCA-A)

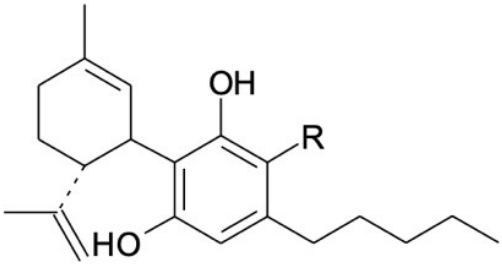
Obrázek 6 - Strukturní vzorce THC - Δ^9



R = H: Δ^8 – tetrahydrokanabinol (Δ^8 – THC)

R = COOH: kyselina Δ^8 – tetrahydrokanabinolová (Δ^8 – THCA)

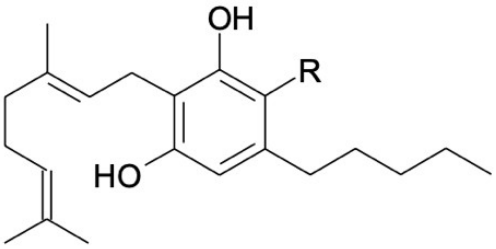
Obrázek 7 - Strukturní vzorce THC - Δ^8



R = H: kanabidiol (CBD)

R = COOH: kanabidiolová kyselina (CBDA)

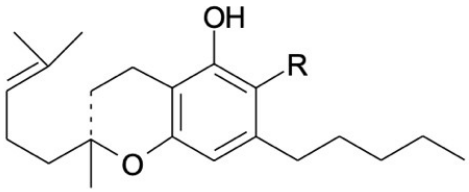
Obrázek 8 - Strukturní vzorce CBD



R = H: kanabigerol (CBG)

R = COOH: kanabigerolová kyselina (CBGA)

Obrázek 9 - Strukturní vzorce CBG



R = H: kanbichromen (CBC)

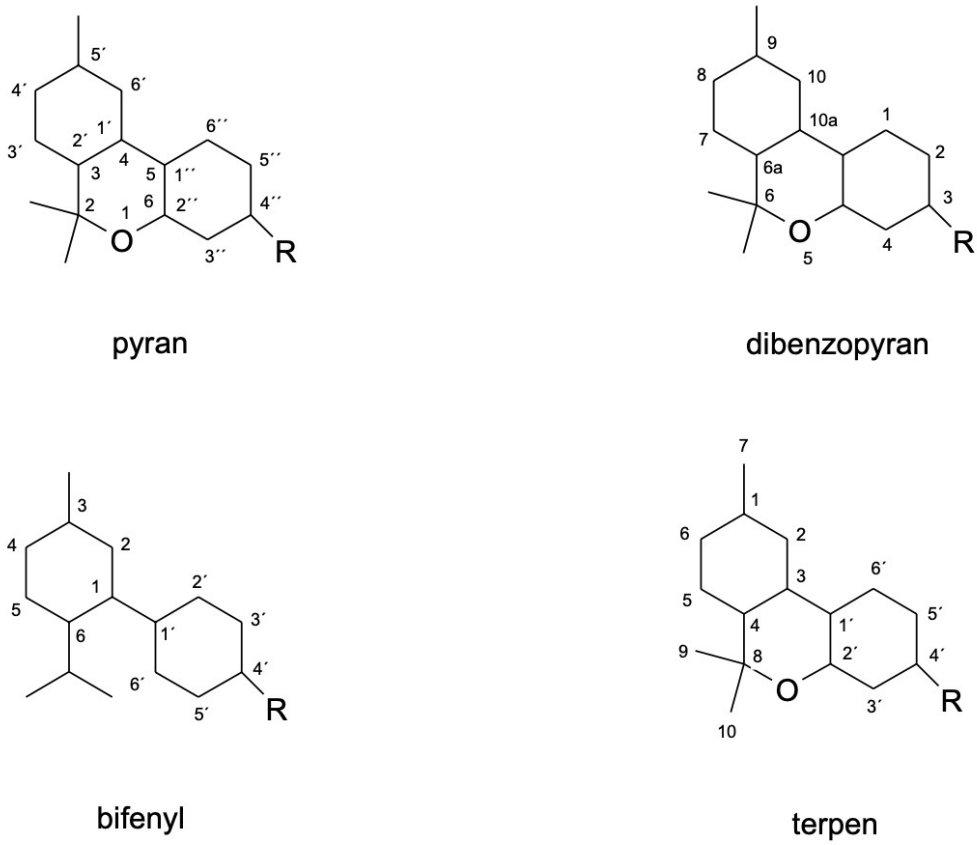
R = COOH: kanabichromová kyselina (CBCA)

Obrázek 10 - Strukturní vzorce CBC

V rostlině samotné se kanabinoidy ukládají převážně ve formě karboxylových kyselin. Při sušení, skladování nebo zahřívání dochází k jejich postupné ztrátě karboxylové skupiny, čímž vznikají tzv. neutrální kanabinoidy.

V odborné literatuře se lze setkat s odlišnými způsoby číslování strukturních vzorců kanabinoidů. Kromě původně zavedeného pyranového systému existuje také číslování

vycházející z dibenzopyranu, dále bifenylové a v Evropě často využívané terpenové číslování. V současnosti se nejčastěji používá systém odvozený od dibenzopyranu.



Obrázek 11 - Možnosti číslování kanabinoidů

5 Vliv stresu a chorob na produkci kanabinoidů

5.1 Obecné znaky

Produkce kanabinoidů u konopí je úzce propojena s reakcemi rostliny na abiotické i biotické stresory. [6][7][8]

Mezi významné stresové faktory patří například:

- nedostatek živin
- omezená dostupnost vody
- intenzivní světelné či UV-B záření
- teplotní extrémy
- patogenní napadení

mohou významně modulovat metabolické dráhy zodpovědné za syntézu sekundárních metabolitů. [6][7][8]

Řada studií naznačuje, že určité stresové faktory mohou biosyntézu kanabinoidů stimulovat, protože tyto látky pravděpodobně představují součást obranných mechanismů rostliny. Současně však jiné práce ukazují, že reakce nejsou konzistentní: u některých genotypů se stres projevuje jen minimálně, případně vede k poklesu obsahu kanabinoidů, a to například při poškození herbicidy. [6][7][8]

Tuto variabilitu dále zvýrazňuje skutečnost, že jednotlivé genotypy konopí mohou na totožné stresové podněty reagovat odlišně, a to jak kvantitativně, tak kvalitativně. [6][7][8]

Celkově lze shrnout, že stresové faktory mohou produkci kanabinoidů ovlivňovat velmi různorodě. Výsledný efekt závisí na intenzitě stresu, vývojovém stádiu rostliny a jejím genetickém pozadí, přičemž jejich vzájemné působení vytváří komplexní a často nepředvídatelné reakční vzorce. [6][7][8]

5.2 Abiotický stres

Abiotické stresory představují klíčové faktory, které mohou ovlivňovat metabolické dráhy zodpovědné za tvorbu kanabinoidů. Patří mezi ně zejména nedostatek vody,

extrémní teploty, intenzivní světelné či UV-B záření a nedostatek živin. Tyto podmínky mohou u rostlin vyvolat změny v růstu, hustotě trichomů, syntéze sekundárních metabolitů a v celkové fyziologické aktivitě. Abiotický stres zároveň výrazně zvyšuje predispozici rostlin k patogenním infekcím, jak uvádí McPartland, který zdůrazňuje, že sucho, nedostatek světla nebo extrémní teploty činí rostliny náchylnějšími k houbovým chorobám a mohou tak sekundárně omezovat i produkci kanabinoidů. Nedostatky živin mohou navíc přímo ovlivnit tvorbu klíčových prekurzorů sekundárního metabolismu, zatímco teplotní extrémy nebo UV-B mohou některé biosyntetické dráhy stimulovat a jiné potlačovat. Celkový efekt abiotického stresu tak závisí na intenzitě, trvání a vývojovém stadiu rostliny. [9]

5.3 Biotický stres

Biotický stres zahrnuje interakce rostliny s živými organismy, které mohou její vitalitu a metabolismus výrazně narušit. U konopí jsou nejčastější příčinou biotického stresu houbové choroby, které tvoří většinu všech infekcí. McPartland uvádí, že konopí trpí více než stovkou chorob, které jsou způsobeny houbami, bakteriemi, viry, nematodi a parazitickými rostlinami, přičemž houby představují naprosto dominantní skupinu patogenů. Nejzávažnějším patogenem je *Botrytis cinerea*, která může během krátké doby zničit celý porost, zejména u hustých květenství. Další významné choroby zahrnují kořenové hniloby způsobené druhy *Fusarium*, *Rhizoctonia* a *Sclerotium*, které ovlivňují příjem vody a živin. Listové skvrnitosti rodu *Septoria*, *Phoma* a *Ascochyta* mohou významně snižovat výnos a vitalitu rostlin. Mezi další biotické stresory patří nematodi, kteří narušují kořenový systém, parazitické rostliny rodu *Orobanche* a *Cuscuta*, a virové infekce, jež snižují výnos a energetickou dostupnost pro sekundární metabolismus. Intenzita biotického stresu se mění v závislosti na typu kultivaru, způsobu pěstování, geografických podmínkách i růstové fázi rostliny. [9]

5.4 Stres, hormony a regulace biosyntézy kanabinoidů

Stresové hormony a signální molekuly představují klíčový regulační prvek v tom, jak konopí reaguje na abiotické i biotické stresory. Signální dráhy zahrnující kyselinu jasmonovou (JA), kyselinu salicylovou (SA), ethylen a další hormonální signály jsou úzce propojeny s aktivací obranných mechanismů a mohou ovlivňovat tvorbu trichomů i koncentraci kanabinoidů. Studie zabývající se exogenní aplikací jasmonátů

ukazují, že tyto molekuly mohou zvyšovat hustotu glandulárních trichomů a stimulovat akumulaci kanabinoidů, což podporuje hypotézu, že tyto metabolity jsou součástí obranných strategií rostliny.

Biotické stresory, jako jsou patogeny, často aktivují dráhy spojené se SA, zatímco herbivorie a některé abiotické podněty aktivují JA-dependentní dráhy. Tyto signální systémy následně regulují expresi genů biosyntézy kanabinoidů prostřednictvím transkripčních faktorů a modulace promotorových oblastí genů biosyntetických enzymů. Interakce mezi stresovými hormony může navíc vést k synergickým nebo antagonickým efektům, které určují výsledný metabolický profil. Komplexnost těchto signálních vazeb vysvětluje, proč různé stresy mohou vést k odlišným reakcím rostlin a proč se produkce kanabinoidů liší mezi genotypy i podmínkami prostředí. [9]

6 Analytické metody stanovení kanabinoidů

6.1 Kapalinová chromatografie (LC)

Kapalinová chromatografie představuje v současnosti nejdůležitější analytickou techniku pro stanovení kanabinoidů v rostlinných materiálech, extraktech i finálních produktech. Její zásadní výhodou je možnost analyzovat kanabinoidy ve formě, v jaké se přirozeně vyskytují, tedy včetně jejich kyselých prekurzorů i jejich neutrálních forem. Na rozdíl od plynové chromatografie (GC) nedochází při LC k tepelné dekarboxylaci, a proto je možné přesně stanovit obsah THCA, CBDA, CBGA a dalších kyselých sloučenin. Tato přednost je klíčová při studiu biosyntetických drah, fyziologie rostlin i při šlechtění konopí, protože poměr kyselých a neutrálních kanabinoidů odráží aktuální metabolický stav rostliny a není zkreslen teplotním rozkladem během analýzy. LC tak poskytuje věrný obraz chemického profilu bez sekundárních artefaktů způsobených analýzou. [10]

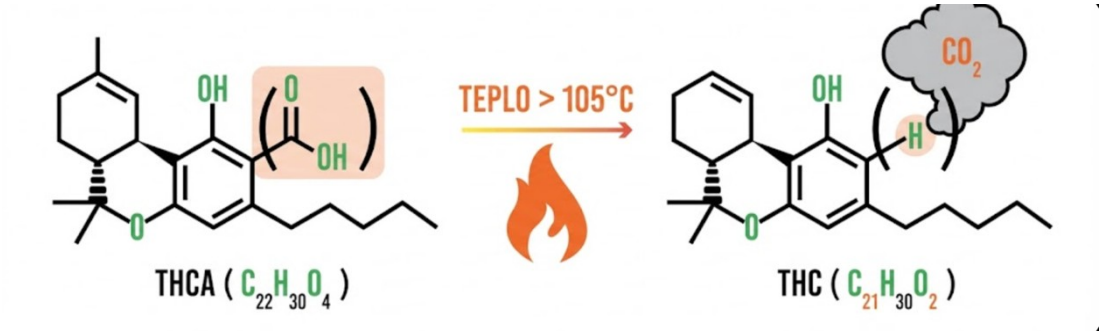
6.2 Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie (GC) představuje separační techniku, která je díky své robustnosti a rychlosti standardně využívána pro kvantitativní a kvalitativní analýzu těkavých sloučenin. V kontextu analýzy konopí je GC vhodná metoda pro stanovení celkového obsahu kanabinoidů vyjádřeného jako tzv. ekvivalenty, pomocí nichž lze vyjádřit součet kyselé a neutrální formy příslušného kanabinoidy (ekvivalenty CBD = CBD + 0,877×CBDA).

6.2.1 Dekarboxylace a zásadní omezení metody

Zásadní omezení GC pro analýzu kanabinoidů spočívá v termální degradaci analyzovaných látek.

Kanabinoidy v rostlinném materiálu se primárně vyskytují v kyselé formě (např. *THCA, CBDA)*. Tyto kyselé formy nejsou za standardních podmínek analýzy v GC stabilní. Během průchodu vzorku vysoce vyhřívaným vstřikovacím portem (typicky 150 ˚C–300 ˚C) dochází ke spontánní a kvantitativní dekarboxylaci, při níž se odštěpí molekula oxidu uhličitého. V důsledku tohoto jevu se kyselé formy přeměňují na své neutrální, těkavé ekvivalenty:



Obrázek 12 - dekarboxylace THCA

6.3 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Kapalinová chromatografie spojená s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) nebo vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (HRMS) představuje v současnosti jednu z nejcitlivějších a nejspolehlivějších analytických metod pro stanovení kanabinoidů. Tyto techniky umožňují přesnou identifikaci a kvantifikaci nejen hlavních, ale i desítek minoritních kanabinoidů, často v nízkých stopových koncentracích.[11]

Významnou výhodou těchto technik je vysoká selektivita a citlivost detekce. HRMS poskytuje přesné určení hmotnosti iontů a umožňuje tak spolehlivou identifikaci analyzovaných látek, zatímco vysokorozlišovací tandemová hmotnostní spektrometrie poskytuje fragmentační spektra charakteristická pro jednotlivé sloučeniny. Díky tomu lze tyto metody využít nejen pro kvantitativní analýzu známých kanabinoidů, ale také pro identifikaci nových nebo méně běžných struktur. [11]

MS lze rovněž využít pro současnou analýzu širšího spektra látek přítomných v konopí, včetně kanabinoidů, terpenů a flavonoidů, což umožňuje získat komplexní chemický profil analyzovaného vzorku. Další výhodou je relativně jednoduchá příprava vzorku a možnost analýzy velmi malých množství materiálu, například biologických matric (plazma) nebo různých částí rostliny. Tyto vlastnosti činí LC-MS založené metody důležitým nástrojem pro studium metabolismu kanabinoidů, forenzní analýzy i kontrolu kvality konopných produktů. [11]

6.3.1 Limity metody

Navzdory své univerzálnosti mají tyto techniky několik omezení. Pořizovací i provozní náklady instrumentální techniky jsou vysoké, stejně jako nároky na kvalifikovaný personál a údržbu přístroje. Navíc je nezbytné provádět důkladnou validaci metodiky, jelikož matrice konopí je velmi komplexní a může významně ovlivňovat přesnost měření. [11]

7 Materiál

Studovaným materiálem byla sušená biomasa květů konopí setého (*Cannabis sativa* L.), pěstovaného ve foliovém skleníku v květináčích s profesionálním pěstebním substrátem. Pokus byl založen v červenci 2024 a zahrnoval celkem čtyři experimentální varianty. Každá varianta byla zastoupena 15 rostlinami, celkový počet rostlin v pokusu byl 60.

Dvě varianty byly ošetřeny kombinovaným postřikem nanoemulze fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu, zatímco zbývající dvě varianty sloužily jako kontroly ošetřené vodou. Desátý týden od založení pokusu byly dvě varianty inokulovány patogenní houbou *Botrytis cinerea*. Jedna z těchto variant představovala kontrolu ošetřenou vodou, druhá byla kombinována s aplikací nanoemulze.

Květy byly sklízeny ručně, maximálně zbaveny listových částí a rozděleny na vrcholová a postranní květenství. Sušení probíhalo při teplotě 20–30 °C do dosažení konstantní hmotnosti. Vzorky byly následně označeny podle experimentální varianty a typu květenství.

Experimentální varianty byly definovány následovně:

-Kontrola ošetřovaná vodou (K)

-Kontrola ošetřovaná vodou s inokulací *Botrytis cinerea* (B)

-Ošetření nanoemulzí fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu (FoCp)

-Ošetření nanoemulzí fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu s inokulací *Botrytis cinerea* (BFoCp)

V rámci této práce byla analyzována postranní květenství.

8 Příprava vzorků

V úvodní fázi experimentu byly veškeré vzorky řádně označeny a zaevidovány do laboratorní databáze VŠCHT. Následovala jejich homogenizace pomocí laboratorního mlýnku, přičemž byl kladen důraz na striktní dodržování analytických standardů pro akreditovaná pracoviště. Pro zamezení křížové kontaminace mezi jednotlivými vzorky byl mlýnek po každém použití důkladně dekontaminován detergentem a následně propláchnut ethanolem.

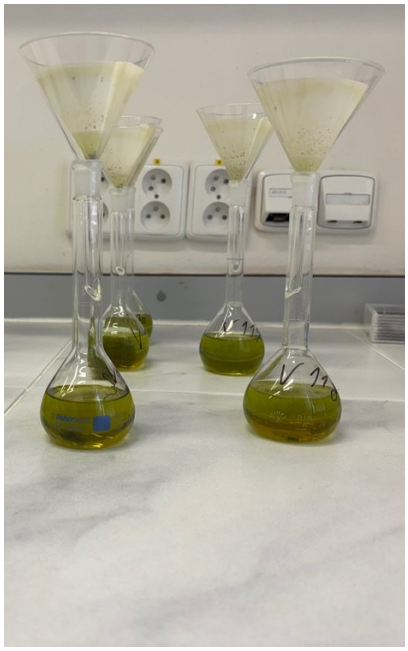


Obrázek 13 - Homogenizace

Homogenizovaný materiál byl následně přesně navážen na analytických vahách do centrifugačních kyvet. Ke vzorkům bylo přidáno extrakční rozpouštědlo tvořené směsí methanolu a vody (8:2, *v/v*). Extrakce analytů probíhala na laboratorní třepačce a byla následována centrifugací. Získaný supernatant byl přefiltrován do 50mL odměrných baněk. Extrakční postup byl následně zopakován a získané extrakty byly spojeny v odměrné baňce, která byla doplněna extrakčním rozpouštědlem po rysku.



Obrázek 14 - Třepačka



Obrázek 15 - Odměrné baňky

Získané extrakty byly dále použity k přípravě ředicí řady, aby koncentrace analytů ve vzorcích spadala do lineárního rozsahu metody a nedocházelo k saturaci detektoru. Připraveny byly roztoky s faktory ředění v rozsahu 10–100 000.

Finální roztoky byly následně převedeny do skleněných vialek a umístěny do autosampleru pro následnou analýzu metodou UPLC-HRMS.



Obrázek 16- UPLC-HMRS

9 Kalibrace a standardy

Pro kvantifikaci fytokanabinoidů ve vzorcích konopí byla použita metoda externí kalibrace s využitím rozpouštědlové a matriční kalibrační řady. Kalibrační řada pokrývala koncentrační rozsah 1–250 ng/ml, což odpovídá lineárnímu dynamickému rozsahu použité instrumentální metody UHPLC-HRMS. Kvantifikace byla založena na porovnání ploch píků analytických standardů s plochami píků analytů ve vzorcích.

9.1 Analytické standardy

Jako analytické standardy byly použity certifikované referenční materiály fytokanabinoidů od výrobců Cerilliant (USA) a Cayman Chemical (USA). Pro kvantifikaci neutrálních kanabinoidů byl využit směsný standard obsahující CBC, CBD, CBDV, CBG, CBN, Δ⁸-THC, Δ⁹-THC a THCV o koncentraci 0,5 mg/ml v methanolu. Kyselé kanabinoidy byly zastoupeny směsným standardem obsahujícím CBCA, CBDA, CBDVA, CBGA, Δ⁹-THCA-A a THCVA o stejné koncentraci. Individuální standardy minoritních kanabinoidů (např. CBNA, CBL, CBLA, CBT, Δ⁹-THCP, CBDP, HHC a dalších) byly dodány jako roztoky o koncentraci 1 mg/ml v příslušném rozpouštědle (methanol nebo acetonitril). Celkem bylo v rámci analýzy sledováno 18 fytokanabinoidů.

9.2 Příprava zásobních roztoků standardů

Zásobní roztoky analytických standardů byly připraveny smícháním individuálních standardů jednotlivých fytokanabinoidů. Z každého zásobního roztoku (c = 1 mg/ml) bylo odpipetováno 100 µl do 10 ml odměrné baňky, která byla následně doplněna ethanolem po rysku. Tímto postupem byly získány tři směsné zásobní roztoky analytických standardů pro neutrální, kyselé a semisyntetické fytokanabinoidy o výsledné koncentraci 10 000 ng/ml. Takto připravené roztoky byly uchovávány při teplotě −20 °C.

9.3 Příprava kalibrační řady

Ze zásobních roztoků byly postupným ředěním ethanolem připraveny dva pracovní směsné standardy: Směsný standard I o koncentraci 1 000 ng/ml a Směsný standard II o koncentraci 100 ng/ml. Kalibrační řada o sedmi koncentračních bodech (1, 5, 10, 25,

50, 100 a 250 ng/ml) byla připravena pipetováním příslušných objemů pracovních standardů do skleněných vialek a doplněním na výsledný objem 1 ml ethanolem (viz Tabulka).

Paralelně byla připravena matriční kalibrační řada o stejném koncentračním rozsahu, do níž bylo jako rozpouštědlo namísto čistého ethanolu použito extraktu blank matrice. Matriční kalibrace slouží ke kompenzaci vlivu komplexní matrice konopí na odezvu analytu (tzv. matricový efekt), který může způsobovat ionizační supresi nebo zesílení signálu v hmotnostním spektrometru.

Tabulka 1 – Směsné koncentrace standardů

Koncentrace kalibračního bodu (ng/ml)	Směsný standard I (1 000 ng/ml)	Směsný standard II (100 ng/ml)	Výsledný objem rozpouštědla
250	250 µl	—	1 ml
100	100 µl	—	1 ml
50	50 µl	—	1 ml
25	—	250 µl	1 ml
10	—	100 µl	1 ml
5	—	50 µl	1 ml
1	—	10 µl	1 ml

9.4 Identifikace a kvantifikace analytů

Identifikace analytů byla provedena na základě dvou kritérií: shody retenčního času s příslušným standardem a přesné hodnoty poměru *m/z* s odchylkou menší než 5 ppm, zajištěné vysokorozlišovacím hmotnostním spektrometrem Q Exactive Plus™ (Thermo Fisher Scientific, USA) s rozlišením 25 000 FWHM při m/z = 200. Kvantifikace byla prováděna externí kalibrací porovnáním ploch chromatografických píků analytů vůči odezvě standardů o známé koncentraci. Pro zpracování dat byl použit software Xcalibur™ (Thermo Fisher Scientific, USA).

10 Podmínky UPLC analýzy

Pro separaci fytokanabinoidů byl použit systém ultra-účinné kapalinové chromatografie UltiMate 3000 RS UHPLC (Thermo Fisher Scientific, USA) ve spojení s vysokorozlišovacím hmotnostním spektrometrem Q Exactive Plus™ (Thermo Fisher Scientific, USA). Analyty byly separovány na reverzní fázi na chromatografické koloně Acquity UPLC® BEH C18 o rozměrech 150 x 2,1 mm s velikostí částic 1,7 µm (Waters, USA). Teplota kolony byla udržována na 35 °C a teplota autosampleru na 10 °C. Objem nástřiku vzorku činil 3 µl.

Mobilní fáze se skládala ze dvou složek. Složka A byla tvořena 15mM roztokem mravenčanu amonného ve směsi vody a acetonitrilu v poměru 95:5 (v/v) s přídavkem 0,2 % (*v/v*) kyseliny mravenčí. Složka B byla tvořena 5mM roztokem mravenčanu amonného ve směsi vody, isopropanolu a acetonitrilu v poměru 5:10:85 (*v/v/v*) s přídavkem 0,2 % (*v/v*) kyseliny mravenčí. Separace probíhala pomocí gradientové eluce při průtoku 0,40 ml/min s celkovou dobou analýzy 19 minut. Gradient byl nastaven tak, aby byl podíl složky B postupně zvyšován od 5 % na počátku analýzy až na 100 % v čase 16,5 minuty, kde byl udržován do 19. minuty. Následně byl systém uveden zpět do počátečních podmínek a reekvibrován po dobu 2 minut.

Pro ionizaci analytů byla použita ionizace elektrosprejem (ESI) s přepínáním polarit v průběhu analýzy, což umožňuje současnou detekci neutrálních i kyselých forem kanabinoidů v jediném analytickém běhu. Napětí sprejovací kapiláry bylo nastaveno na 3,5 kV, teplota kapiláry na 275 °C, napětí na kapiláře na 60/−60 V a napětí na sběrači na 25/−25 V. Hmotnostní spektra byla snímána v rozsahu m/z 200–500 při akvizičních rychlosti 2 spektra za sekundu a rozlišení 25 000 FWHM při m/z = 200.

11 Zpracování dat

Získaná chromatografická data byla zpracována ve dvou navazujících etapách: nejprve v softwaru Xcalibur™ (Thermo Fisher Scientific, USA), ve kterém probíhalo vyhodnocení naměřených sekvencí, a následně v prostředí Microsoft Excel, kde byly exportované hodnoty upraveny a přepočteny na výsledné koncentrace v jednotkách mg/kg.

V prostředí Microsoft Excel byly ze surových exportovaných dat odstraněny nepotřebné sloupce a ponechány pouze informace nezbytné pro vyhodnocení: Sample ID, Filename, Area, Calculated amount a RT. Datové sloupce byly převedeny do číselného formátu. Kalibrační vzorky a analytické vzorky byly v tabulce vizuálně odděleny. Kalibrační řada byla zkontrolována z hlediska linearity nebo vyloučení odlehlých kalibračních bodů. Odlehlé body ležící výrazně mimo lineární spojnici trendu byly ze souboru dat vyřazeny a kalibrační přímka byla přepočtena. Správnost výběru lineárního rozsahu byla ověřena zpětným dosazením ploch kalibračních bodů do rovnice přímky a porovnáním s nominálními koncentracemi.

Koncentrace analytů získané ze softwaru Xcalibur v jednotkách ng/ml byly přepočteny na výsledné koncentrace v mg/kg podle vztahu:

kde c je koncentrace analytu ve vzorku, V je celkový objem extraktu, m je navážka vzorku a ředění je příslušný faktor ředění. Výsledná koncentrace byla stanovena jako průměr hodnot z těch ředění, jejichž naměřené koncentrace spadaly do lineárního rozsahu kalibrace (5–100 ng/ml pro většinu stanovovaných kanabinoidů). Hodnoty mimo tento rozsah nebyly do výpočtu zahrnuty. Ke každé výsledné hodnotě náleží nejistota měření, jejíž orientační hodnoty v závislosti na koncentraci analytu jsou uvedeny v tabulce níže.

Tabulka 2 – Nejistoty v závislosti na koncentraci

Koncentrace [mg/kg]	**Nejistota [%]**
0,05	50
0,1	45
1	40

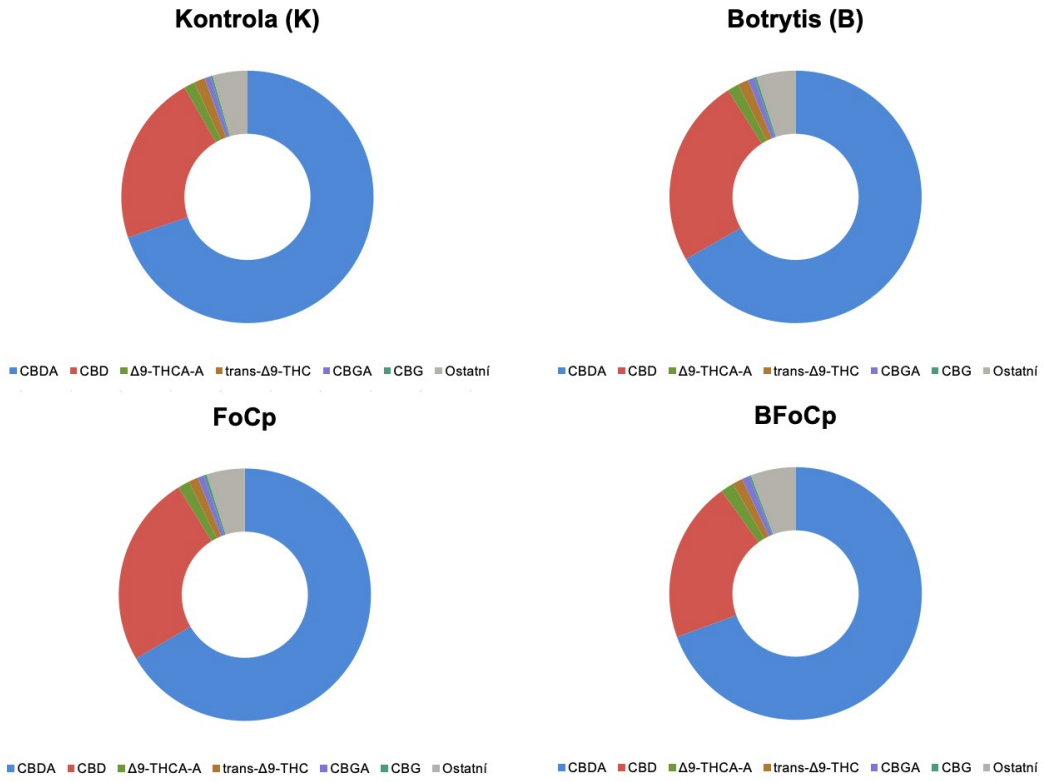
Koncentrace [mg/kg]	Nejistota [%]
10	35
20	25
50	20
100	15
1000	10

12 Výsledky

12.1 Celkový fytokanabinoidní profil

Ve všech vzorcích dominovaly dva kanabinoidy CBDA a CBD, které společně tvořily přibližně 88–92 % celkového kanabinoidního profilu. Zbývající podíl byl zastoupen Δ9-THCA-A, *trans*-Δ9-THC, CBC, CBCA, CBGA, CBG a dalšími minoritními kanabinoidy. Kanabinoidy Δ9-THCV, Δ8-THC a CBL nebyly v žádném ze vzorků detekovány nad limitem kvantifikace a nejsou proto předmětem dalšího hodnocení.

Z grafů je patrné, že kvalitativní složení profilu je ve všech skupinách podobné, zatímco kvantitativní rozdíly jsou diskutovány níže.



Obrázek 17 – koláčové grafy – 4 skupiny

Průměrné koncentrace fytokanabinoidů (mg/kg) ± SD a výsledky jednocestné ANOVA s Fisher's LSD post-hoc testem

*n = 15 vzorků na skupinu | Data normalizována log transformací a autoscalingem (MetaboAnalyst) | Post-hoc: Fisher's LSD | FDR: Benjamini-Hochberg | *** p < 0,001; ** p < 0,01; * p < 0,05; ns = nevýznamné; — = nebylo testováno (pod LOQ)*

Kanabinoid	Kontrola (K) průměr ± SD	Botrytis (B) průměr ± SD	FoCp průměr ± SD	BFoCp průměr ± SD	F-hodnota	p-hodnota	FDR	Sig. rozdíly (Fisher's LSD)
CBDVA	71.1 ± 13.8	75.3 ± 16.6	83.8 ± 20.5	79.9 ± 13.2	—	—	—	—
CBDV	19.3 ± 5.3	23.8 ± 3.7	22.0 ± 4.7	23.2 ± 5.2	—	—	—	—
CBDA	48,748 ± 8,786	50,048 ± 10,300	54,727 ± 9,656	55,325 ± 10,614	—	—	—	—
CBG	196 ± 53	238 ± 62	297 ± 70	197 ± 39	**9.010**	**5.80e-05 *****	**2.90e-04**	B vs K FoCp vs K FoCp vs B
CBD	15,276 ± 5,053	18,141 ± 3,066	20,230 ± 3,893	16,440 ± 3,410	**4.553**	**0.0063 ****	**0.0158**	B vs K FoCp vs K FoCp vs BFoCp
CBGA	532 ± 181	625 ± 197	679 ± 226	756 ± 185	**4.102**	**0.0106 ***	**0.0227**	FoCp vs K BFoCp vs K
Δ9-THCV	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	—	—	—	—
THCVA	2.09 ± 0.52	2.40 ± 0.81	2.58 ± 0.64	2.57 ± 0.45	—	—	—	—
CBN	25.7 ± 9.0	31.1 ± 7.1	28.0 ± 9.4	31.0 ± 8.2	—	—	—	—
cis-Δ9-THC	508 ± 99	581 ± 67	614 ± 102	630 ± 101	**4.957**	**0.0040 ****	**0.0121**	B vs K FoCp vs K BFoCp vs K
CBNA	22.5 ± 5.2	28.8 ± 7.5	43.9 ± 11.6	43.8 ± 9.9	**25.428**	**1.64e-10 *****	**2.46e-09**	B vs K FoCp vs K BFoCp vs K
trans-Δ9-THC	1,001 ± 256	1,028 ± 86	1,019 ± 164	1,041 ± 190	—	—	—	—
Δ8-THC	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	—	—	—	—
CBL	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	—	—	—	—
CBC	744 ± 241	880 ± 134	853 ± 206	839 ± 172	—	—	—	—
Δ9-THCA-A	972 ± 279	1,090 ± 344	1,228 ± 321	1,351 ± 278	**5.226**	**0.0030 ****	**0.0112**	FoCp vs K BFoCp vs K BFoCp vs B
CBCA	1,723 ± 334	2,134 ± 497	2,386 ± 541	3,009 ± 585	**18.064**	**2.54e-08 *****	**1.90e-07**	B vs K FoCp vs K BFoCp vs K
CBLA	3.40 ± 1.34	3.35 ± 1.10	3.01 ± 0.76	2.63 ± 1.05	—	—	—	—
CELKEM	**69,844 ± 12,462**	**74,929 ± 10,907**	**82,216 ± 12,330**	**79,771 ± 14,082**	—	—	—	—

Obrázek 18 - Průměrné koncentrace fytokanabinoidů a výsledky ANOVA

Celkový obsah fytokanabinoidů se pohyboval v rozmezí 45 526–102 575 mg/kg a numericky rostl v pořadí K < B < BFoCp < FoCp.

Průměrné hodnoty byly:

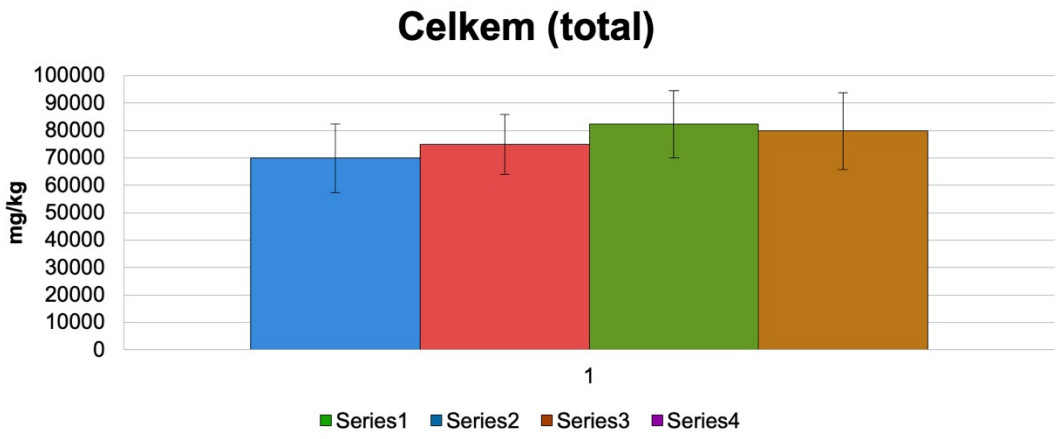
-K = 69 844 ± 12 462 mg/kg (6,98 % w/w)

-B = 74 929 ± 10 907 mg/kg (7,49 % w/w)

-FoCp = 82 216 ± 12 330 mg/kg (8,22 % w/w)

-BFoCp = 79 771 ± 14 082 mg/kg (7,98 % w/w)

Ošetření přípravkem FoCp tedy vedlo k numericky nejvyššímu celkovému obsahu kanabinoidů, přičemž nárůst oproti kontrole K činil přibližně 18 %.



Obrázek 19 – Celkový obsah fytokanabinoidů

12.2 Statistická analýza – přehled

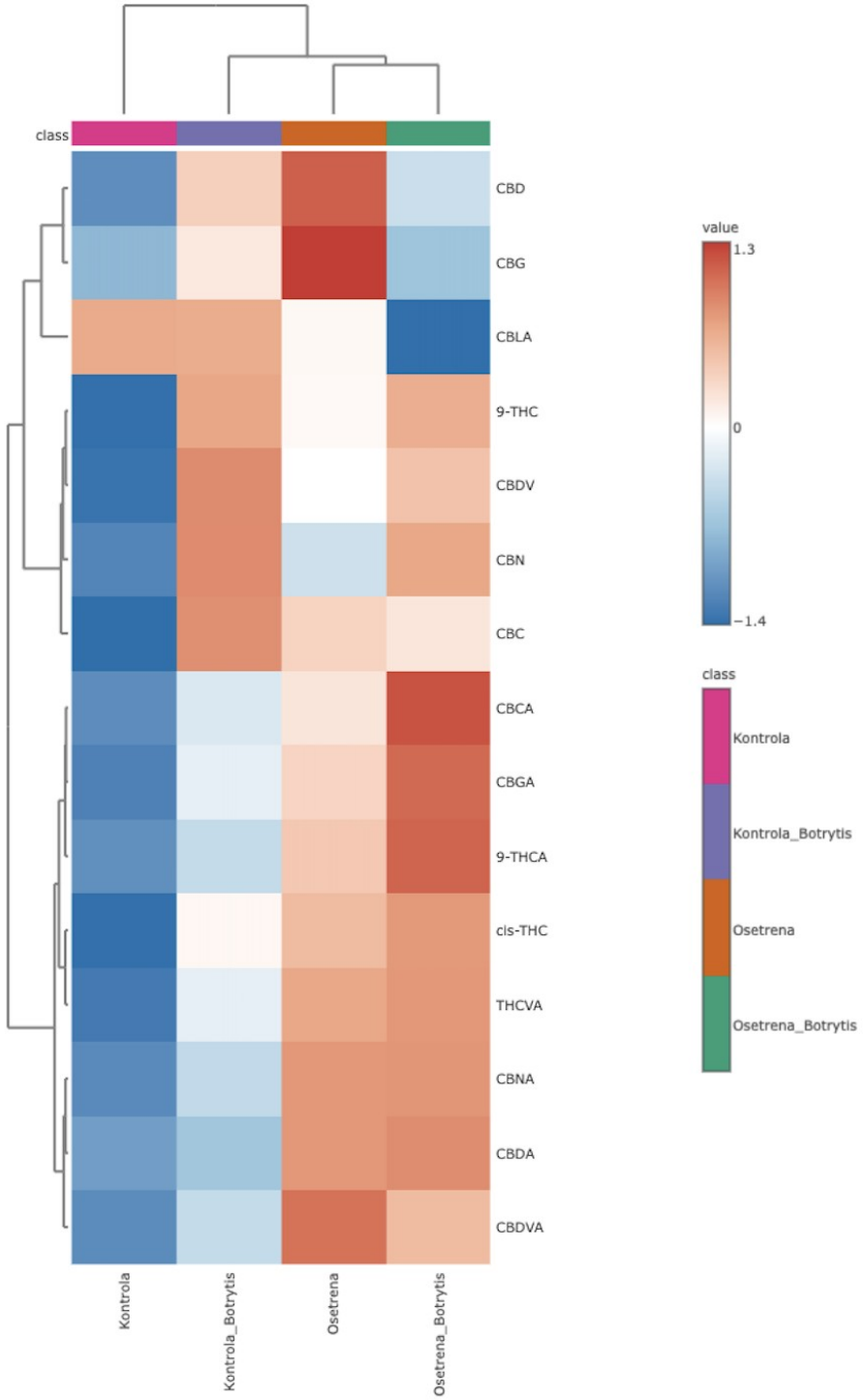
Pro porovnání koncentrací fytokanabinoidů mezi skupinami byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (one-way ANOVA) provedená v softwaru MetaboAnalyst na log-transformovaných a autoscalovaných datech. Jako post-hoc test byl aplikován Fisher's LSD test. ANOVA prokázala statisticky významné rozdíly mezi skupinami celkem u 7 kanabinoidů. Výsledky jsou seřazeny podle síly statistického signálu, tedy od nejnižší po nejvyšší p-hodnotu.

P-hodnota vyjadřuje pravděpodobnost, že by pozorované rozdíly mezi skupinami vznikly čistě náhodou za předpokladu, že žádný skutečný rozdíl neexistuje. Čím nižší je p-hodnota, tím silnější je statistický důkaz pro skutečný rozdíl mezi skupinami. Jako hranice statistické významnosti byla zvolena konvenční hodnota $p < 0{,}05$.

Tabulka 3 - ANOVA

Kanabinoid	F-hodnota	p-hodnota	FDR
CBNA	25,43	$1{,}64 \times 10^{-10}$	$2{,}46 \times 10^{-9}$
CBCA	18,06	$2{,}54 \times 10^{-8}$	$1{,}90 \times 10^{-7}$
CBG	9,01	$5{,}80 \times 10^{-5}$	$2{,}90 \times 10^{-4}$
Δ9-THCA-A	5,23	0,003	0,011
cis-Δ9-THC	4,96	0,004	0,012
CBD	4,55	0,006	0,016
CBGA	4,10	0,011	0,023

U zbývajících 11 kvantifikovaných kanabinoidů (CBDVA, CBDV, CBDA, THCVA, CBN, *trans*-Δ9-THC, CBC, CBLA) nebyly mezi skupinami zjištěny statisticky významné rozdíly ani po korekci na mnohočetné testování.



12.3 CBDA a CBD – dominantní kanabinoidy

Majoritním kanabinoidem ve všech skupinách byla CBDA, která tvořila 66,6–69,8 % celkového profilu.

Průměrné koncentrace se pohybovaly od:

-48 748 ± 8 786 mg/kg (K)

-50 048 ± 10 300 mg/kg (B)

-54 727 ± 9 656 mg/kg (FoCp)

-55 325 ± 10 614 mg/kg (BFoCp)

Přestože je numerický vzestupný trend patrný, ANOVA neprokázala statisticky významný rozdíl ($p = 0,109$). Vysoká variabilita uvnitř skupin pravděpodobně maskuje případný biologický efekt.

Druhým nejhojnějším kanabinoidem bylo CBD s podílem 20,6–24,6 % celkového profilu. ANOVA prokázala statisticky významný rozdíl mezi skupinami ($F = 4,55$; $p = 0,006$; FDR = 0,016).

Průměrné koncentrace:

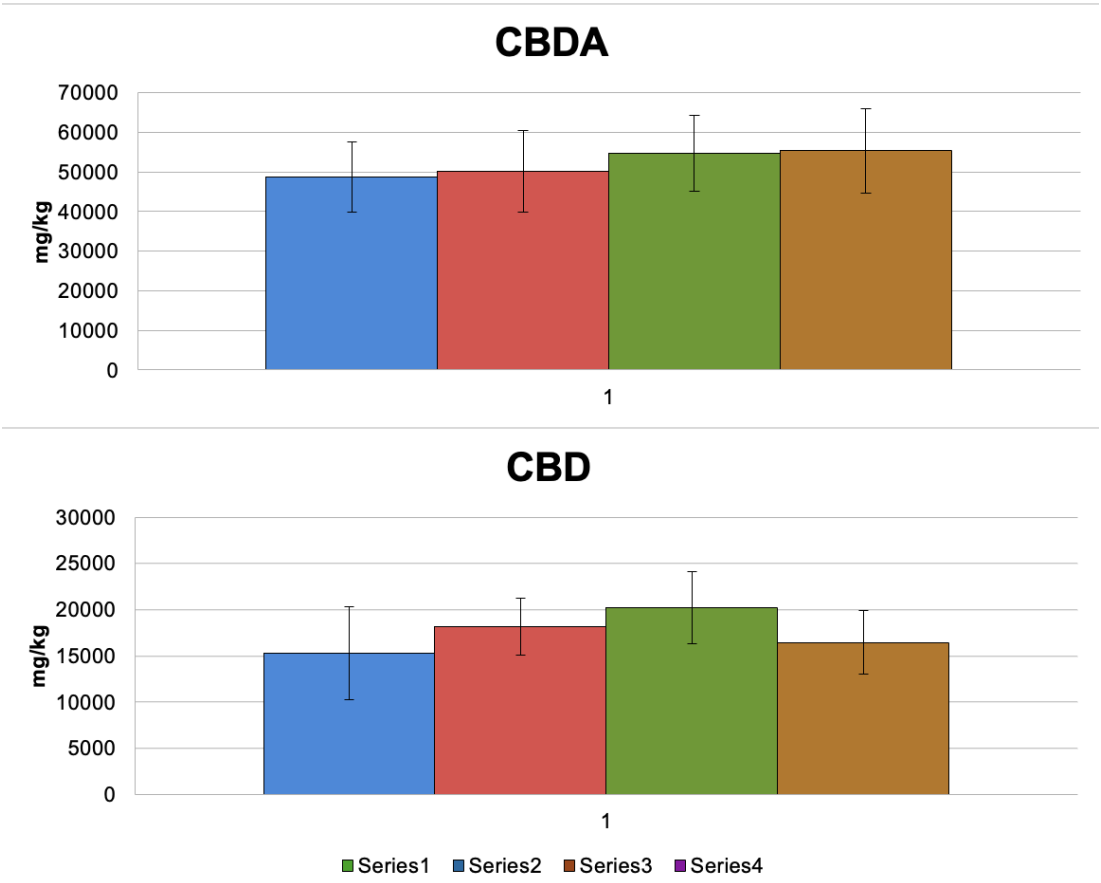
-K = 15 276 ± 5 053 mg/kg

-B = 18 141 ± 3 066 mg/kg

-FoCp = 20 230 ± 3 893 mg/kg

-BFoCp = 16 440 ± 3 410 mg/kg.

Fisher's LSD post-hoc test prokázal statisticky významné rozdíly mezi skupinami B a K, FoCp a K, a dále mezi FoCp a BFoCp. Skupina FoCp vykazovala nejvyšší obsah CBD, přičemž přítomnost infekce *B. cinerea* (skupina BFoCp) tento nárůst potlačila, hodnoty BFoCp se vrátily na úroveň srovnatelnou s kontrolou K.



Obrázek 20 - Průběh koncentrací CBDA a CBD napříč skupinami

12.4 Minoritní kanabinoidy se statisticky významnou odezvou

12.4.1 CBNA

CBNA vykazovala nejsilnější statistický signál ze všech analyzovaných kanabinoidů ($F = 25{,}43$; $p = 1{,}64 \times 10^{-10}$; $FDR = 2{,}46 \times 10^{-9}$).

Průměrné koncentrace:

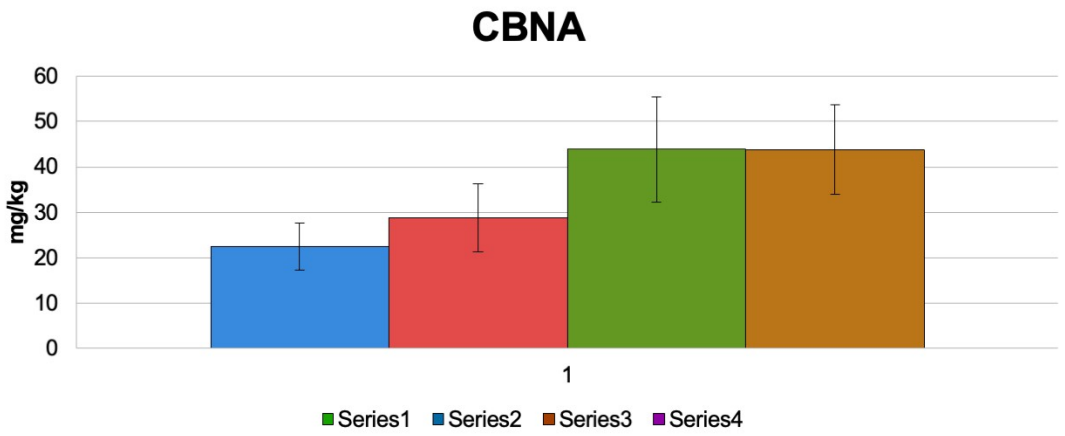
-K = 22,5 ± 5,2 mg/kg

-B = 28,8 ± 7,5 mg/kg

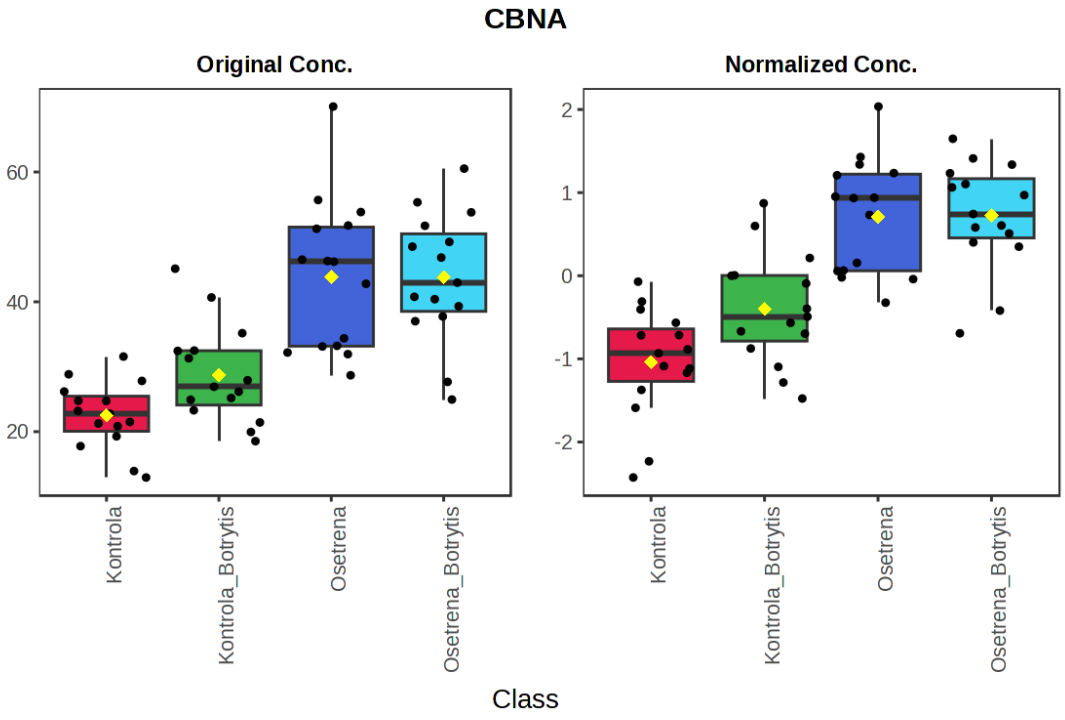
-FoCp = 43,9 ± 11,6 mg/kg

-BFoCp = 43,8 ± 9,9 mg/kg.

Fisher's LSD post-hoc test prokázal statisticky významné rozdíly mezi B a K; FoCp a K; BFoCp a K; FoCp a B; BFoCp a B. Naproti tomu mezi skupinami FoCp a BFoCp nebyl rozdíl statisticky průkazný, což jednoznačně ukazuje, že efekt je primárně způsoben aplikací přípravku FoCp, nikoli přítomností infekce *B. cinerea*. Obsah CBNA byl ve skupinách FoCp a BFoCp téměř dvojnásobný oproti kontrole K.



Obrázek 21 - Průběh koncentrací CBNA napříč skupinami



Obrázek 22 - Boxplot CBNA

12.4.2 CBCA

CBCA byla druhým nejsignifikantnějším kanabinoidem ($F = 18,06$; $p = 2,54 \times 10^{-8}$; $FDR = 1,90 \times 10^{-7}$).

Průměrné koncentrace vykazovaly výrazný vzestupný trend:

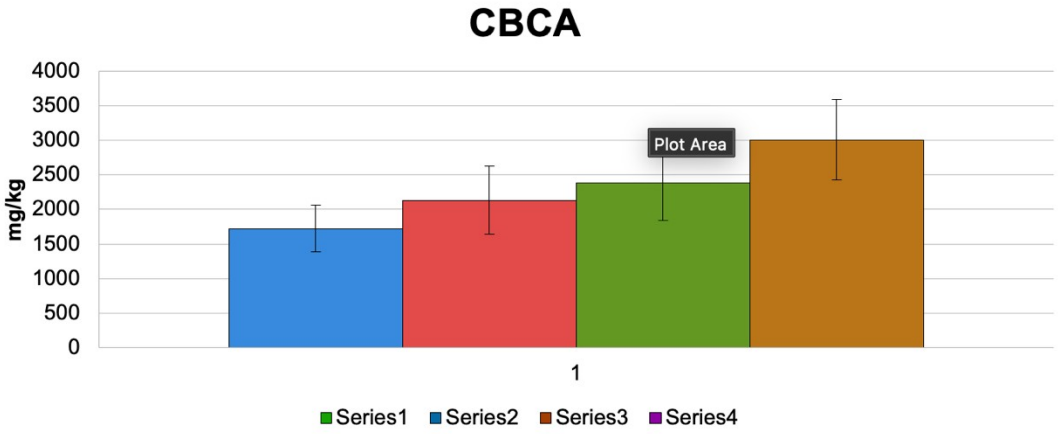
-K = 1 723 ± 334 mg/kg

-B = 2 134 ± 497 mg/kg

-FoCp = 2 386 ± 541 mg/kg

-BFoCp = 3 009 ± 585 mg/kg

Post-hoc test prokázal statisticky významné rozdíly mezi B a K; FoCp a K; BFoCp a K; BFoCp a B; a BFoCp a FoCp. Posledně jmenovaný rozdíl mezi skupinami BFoCp a FoCp – je klíčovým zjištěním: skupina BFoCp vykazovala statisticky významně vyšší obsah CBCA než skupina FoCp bez infekce, což naznačuje aditivní efekt kombinace přípravku a biotického stresu způsobeného B. cinerea. Obsah CBCA v BFoCp byl přibližně 1,75× vyšší než v kontrole K.



Obrázek 23 - Průběh koncentrací CBCA napříč skupinami

12.4.3 CBG

CBG vykazoval statisticky významné rozdíly mezi skupinami ($F = 9,01$; $p = 5,80 \times 10^{-5}$; $FDR = 2,90 \times 10^{-4}$).

Průměrné koncentrace:

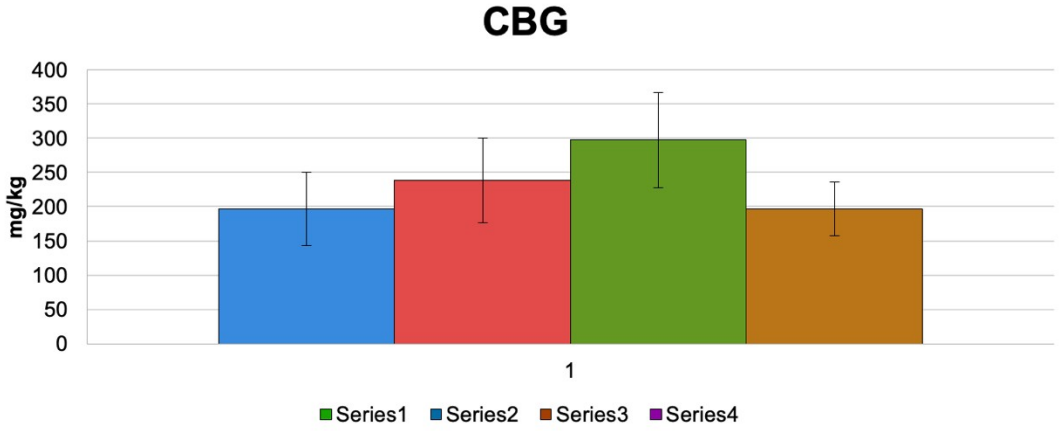
-K = 196 ± 53 mg/kg

-B = 238 ± 62 mg/kg

-FoCp = 297 ± 70 mg/kg

-BFoCp = 197 ± 39 mg/kg.

Post-hoc test prokázal statisticky významné rozdíly mezi B a K; FoCp a K; FoCp a B; FoCp a BFoCp. Absence statisticky významného rozdílu mezi K a BFoCp je biologicky pozoruhodná – přítomnost infekce *B. cinerea* ve skupině BFoCp patrně kompenzovala nárůst CBG způsobený přípravkem FoCp, pravděpodobně zvýšenou utilizací CBG jako substrátu pro downstream biosyntézu dalších kanabinoidů (CBDA, THCA, CBC). CBG je označován jako „mateřský kanabinoid" – prekurzor všech ostatních kanabinoidů prostřednictvím příslušných syntáz.



Obrázek 24 - Průběh koncentrací CBG napříč skupinami

12.4.4 Δ9-THCA-A

ANOVA prokázala statisticky významný efekt pro Δ9-THCA-A (F = 5,23; p = 0,003; FDR = 0,011). Průměrné koncentrace:

-K = 972 ± 279 mg/kg

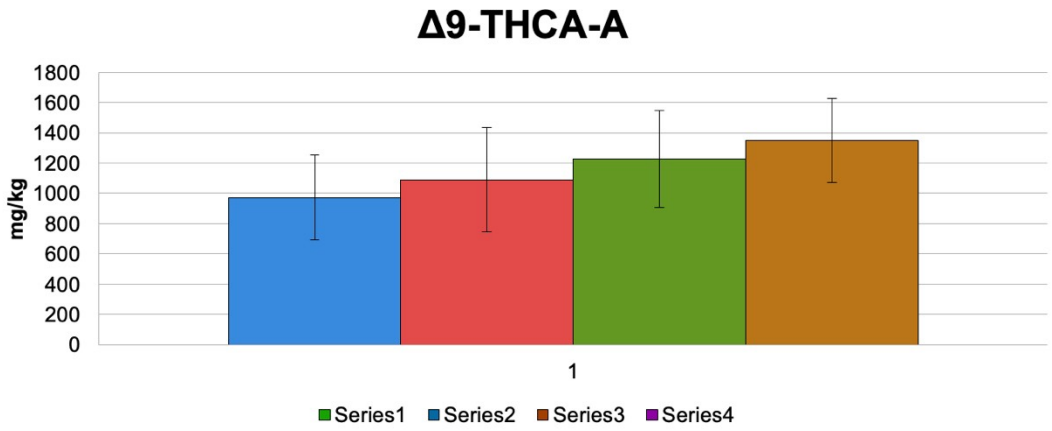
-B = 1 090 ± 344 mg/kg

-FoCp = 1 228 ± 321 mg/kg

-BFoCp = 1 351 ± 278 mg/kg.

Post-hoc test prokázal statisticky významné rozdíly mezi FoCp a K; BFoCp a K; a BFoCp a B. Vzestupný trend napříč všemi skupinami (K < B < FoCp < BFoCp)

naznačuje, že jak ošetření přípravkem, tak infekce *B. cinerea* vedou k postupné aktivaci THC biosyntézní větve. Nejvyšší hodnoty ve skupině BFoCp jsou tak výsledkem kombinovaného efektu obou faktorů.



Obrázek 25 - Průběh koncentrací Δ9-THCA-A napříč skupinami

12.4.5 cis-Δ9-THC

Statisticky významné rozdíly byly zjištěny rovněž u cis-Δ9-THC (F = 4,96; p = 0,004; FDR = 0,012).

Průměrné koncentrace:

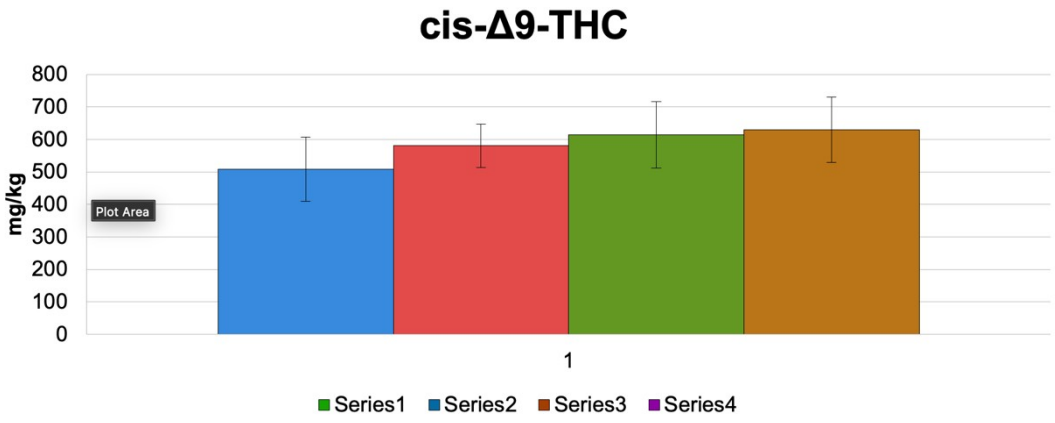
-K = 508 ± 99 mg/kg,

-B = 581 ± 67 mg/kg

-FoCp = 614 ± 102 mg/kg

-BFoCp = 630 ± 101 mg/kg.

Post-hoc test prokázal statisticky významné rozdíly mezi B a K; FoCp a K; BFoCp a K. Všechny tři ošetřené skupiny se tedy lišily od kontroly K, přičemž mezi B, FoCp a BFoCp navzájem statisticky průkazné rozdíly nebyly. Nárůst cis-Δ9-THC je z hlediska sledování kanabinoidního profilu relevantní – jako geometrický izomer *trans*-Δ9-THC sdílí jeho psychoaktivní potenciál, byť v menší míře.



Obrázek 26 - Průběh koncentrací cis-Δ9-THC napříč skupinami

12.4.6 CBGA

U CBGA ($F = 4,10$; $p = 0,011$; $FDR = 0,023$) se od kontroly K statisticky významně lišily skupiny FoCp a BFoCp.

Průměrné koncentrace:

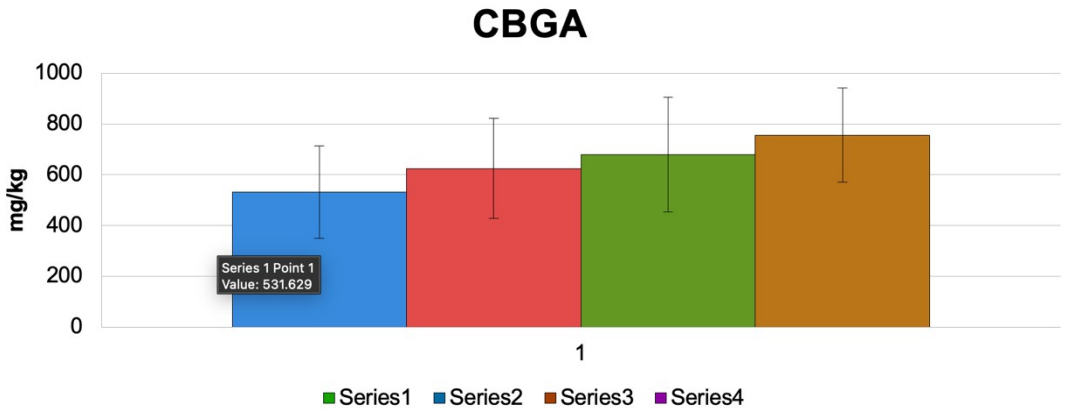
-K = 532 ± 182 mg/kg,

-B = 625 ± 197 mg/kg

-FoCp = 679 ± 226 mg/kg

-BFoCp = 756 ± 185 mg/kg.

CBGA je univerzální prekurzor biosyntézy všech kanabinoidů, jeho zvýšení ve skupinách ošetřených přípravkem naznačuje buď zvýšenou syntézu CBGA, nebo sníženou rychlost jeho konverze na downstream produkty. Přítomnost *B. cinerea* (skupina BFoCp) tento efekt ještě zesílila.



Obrázek 27 - Průběh koncentrací CBGA napříč skupinami

12.5 Kanabinoidy bez statisticky významných rozdílů

U kanabinoidů CBDVA (p = 0,171), CBDV, CBDA (p = 0,109), THCVA, CBN, *trans*-Δ9-THC (p = 0,725), CBC a CBLA nebyly mezi skupinami zjištěny statisticky významné rozdíly ani po FDR korekci. Nepřítomnost statisticky významného rozdílu u *trans*-Δ9-THC je z legislativního hlediska příznivým zjištěním, obsah tohoto kanabinoidu zůstal ve všech skupinách stabilní a pod zákonným limitem.

13 Diskuse

Výsledky provedené analýzy ukazují, že aplikace kombinace nanoemulze fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu (FoCp) statisticky významně ovlivňuje kanabinoidní profil Cannabis sativa, a to u 7 z 18 kvantifikovaných kanabinoidů. Dominantní kanabinoidy CBDA a CBD zůstaly relativně stabilní, což odpovídá skutečnosti, že jejich biosyntéza je primárně determinována genetickým pozadím kultivaru a je obtížné ji krátkodobou aplikací výrazně modifikovat.

Nejsilnější a nejkonzistentnější efekt přípravku FoCp byl zaznamenán u CBNA a CBCA. CBNA je oxidačním produktem CBN a jeho téměř dvojnásobné zvýšení ve skupinách FoCp a BFoCp oproti kontrole K může odrážet zvýšenou aktivitu oxidáz katalyzujících tuto přeměnu. CBCA je prekurzorem CBC a jeho nárůst, zejména ve skupině BFoCp, která vykazovala nejvyšší hodnoty ze všech skupin a statisticky se lišila i od skupiny FoCp, naznačuje synergický efekt kombinace přípravku a biotického stresu B. cinerea. Tento nárůst CBC by však teoreticky mohl být alespoň částečně ovlivněn i dekarboxylací příslušné kyseliny v průběhu skladování vzorků. Tato zjištění jsou konzistentní s hypotézou o indukované systémové rezistenci (ISR), při níž mikrobiální přípravky primingují sekundární metabolické dráhy rostliny, čímž zvyšují její připravenost na patogenní útok

Vzorec pozorovaný u CBG, tedy nárůst ve skupině FoCp a následný návrat na hodnoty kontroly ve skupině BFoCp, je biologicky zajímavý a odlišuje se od většiny ostatních kanabinoidů. Nabízí se interpretace, že přípravek FoCp bez infekce mírně zpomaluje konverzi CBG na downstream produkty, zatímco přítomnost B. cinerea (skupina BFoCp) tuto konverzi znovu urychluje prostřednictvím stresové signalizace, čímž se hladina CBG vrátí na úroveň kontroly. Tato hypotéza by vyžadovala ověření na úrovni genové exprese příslušných syntáz (CBDA syntáza, THCA syntáza, CBC syntáza).

Vzestupný trend u Δ9-THCA-A a cis-Δ9-THC ve skupinách ošetřených přípravkem je z hlediska pěstování průmyslového konopí relevantním zjištěním.

Souběžné zvyšování Δ9-THCA-A a cis-Δ9-THC dokumentuje aktivaci THC biosyntézní větve. Tento poznatek je třeba zohlednit při případné aplikaci přípravku FoCp v komerčním pěstování.

Zvýšení CBGA ve skupinách FoCp a BFoCp je interpretovatelné jako indikátor zvýšeného metabolického toku skrze kanabinoidní biosyntézní dráhu obecně. CBGA vzniká kondenzací geranylpyrofosfátu a olivetolové kyseliny prostřednictvím CBGA syntázy a zvýšení jeho obsahu může být důsledkem aktivace upstream enzymů v rámci ISR odpovědi na přípravek.

Závěr

Tato práce si kladla za cíl kvantifikovat vybrané fytokanabinoidy v sušené biomase květů konopí setého (*Cannabis sativa* L.) pomocí metody U-HPLC-HRMS a porovnat kanabinoidní profily mezi čtyřmi experimentálními variantami odlišujícími se aplikací nanoemulze fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu (FoCp) a/nebo inokulací patogenem *Botrytis cinerea*.

Celkem bylo sledováno 18 fytokanabinoidů, přičemž ve všech vzorcích dominovaly CBDA a CBD, které společně tvořily přibližně 88–92 % celkového profilu. ANOVA xna log-transformovaných datech prokázala statisticky významné rozdíly mezi skupinami u 7 kanabinoidů: CBNA, CBCA, CBG, Δ9-THCA-A, cis-Δ9-THC, CBD a CBGA. U zbylých 11 kvantifikovaných kanabinoidů včetně *trans*-Δ9-THC nebyly statisticky významné rozdíly zjištěny.

Nejvýraznější účinek přípravku FoCp byl zaznamenán u minoritních kanabinoidů CBNA a CBCA. Obsah CBNA byl ve skupinách FoCp a BFoCp téměř dvojnásobný oproti kontrole, a to nezávisle na přítomnosti infekce *B. cinerea*. Obsah CBCA byl nejvyšší ve skupině BFoCp, která kombinovala oba faktory, přípravek i infekci, což naznačuje aditivní efekt biotického stresu a působení přípravku. Vzorec u CBG, kde přítomnost *B. cinerea* potlačila nárůst vyvolaný přípravkem, je konzistentní s hypotézou zvýšené utilizace CBG jako substitučního prekurzoru v rámci biosyntézy ostatních kanabinoidů.

Současné zvyšování Δ9-THCA-A a cis-Δ9-THC ve skupinách ošetřených přípravkem FoCp dokumentuje aktivaci THC biosyntézní větve. Přestože hladiny *trans*-Δ9-THC zůstaly ve všech skupinách pod zákonným limitem a statisticky se mezi skupinami nelišily, je nutné tento aspekt zvažovat při případném komerčním použití přípravku FoCp v pěstování průmyslového konopí.

Zvýšení CBGA ve skupinách ošetřených přípravkem, společně s pozorovanými změnami u CBG, CBCA a CBDA, odkazuje ke zvýšenému metabolickému toku skrze kanabinoidní biosyntézní dráhu jako celku. Tato zjištění jsou konzistentní s hypotézou indukované systémové rezistence (ISR), v jejímž rámci mikrobiální přípravky

primingují sekundární metabolické dráhy a zvyšují připravenost rostliny na patogenní útok.

Závěrem lze konstatovat, že aplikace nanoemulze fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu ovlivňuje kanabinoidní profil *Cannabis sativa*, a to zejména u minoritních kanabinoidů. Dominantní kanabinoidy CBDA a CBD zůstaly relativně stabilní, což odpovídá jejich primární genetické determinaci. Práce poskytuje přesná analytická data, která mohou sloužit jako podklad pro navazující studie zaměřené na účinnost biofungicidní ochrany konopí v kombinaci se sledováním kvality rostlinného materiálu.

Seznam použitých zdrojů

[1] ABBEY, Joel; PERCIVAL, David; ABBEY, Lord; SAMUEL K. ASIEDU; PRITHIVIRAJ, Balakrishnan et al. Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (Botrytis cinerea) – prospects and challenges. Online. Biocontrol Science and Technology. 2018, vol. 29, no. 3, s. 207-228. ISSN 0958-3157. Dostupné z: https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1548574. [cit. 2025-09-24].

[2] *Konopí*. Online. In: Wikipedia: the free encyclopedia. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Konop%C3%AD&oldid=24930908. [cit. 2025-11-27].

[3] MCPARTLAND, John M. A review of Cannabis diseases. Journal of the International Hemp Association, 1996, 3.1: 19-23.

[4] SIRANGELO, Tiziana M., Richard A. LUDLOW a Natasha D. SPADAFORA. *Molecular Mechanisms Underlying Potential Pathogen Resistance in Cannabis sativa* [online]. *Plants*, 2023, roč. 12, č. 15, s. 2764. ISSN 2223-7747. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/plants12152764

[5] BALTHAZAR, Carole; CANTIN, Gabrielle; NOVINSCAK, Amy; JOLY, David L.; FILION, Martin. 2020. Expression of Putative Defense Responses in Cannabis Primed by Pseudomonas and/or Bacillus Strains and Infected by Botrytis cinerea. Frontiers in Plant Science, 25 November 2020, roč. 11. DOI: 10.3389/fpls.2020.572112.

[6] PAYMENT, Josephine a CVETKOVSKA, Marina. The responses of *Cannabis sativa* to environmental stress: a balancing act. Online. *Botany*. 2023, vol. 101, no. 8, s. 318-332. ISSN 1916-2790. Dostupné z: https://doi.org/10.1139/cjb-2023-0056. [cit. 2025-12-01].

[7] TOTH, Jacob A.; SMART, Lawrence B.; SMART, Christine D.; STACK, George M.; CARLSON, Craig H. et al. Limited effect of environmental stress on cannabinoid profiles in high-cannabidiol hemp (*Cannabis sativa* L.). Online. *GCB Bioenergy*. 2021, vol. 13, no. 10, s. 1666-1674. ISSN 1757-1693. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/gcbb.12880. [cit. 2025-12-01].

[8] TRANCOSO, Ingrid; DE SOUZA, Guilherme A. R.; DOS SANTOS, Paulo Ricardo; DOS SANTOS, Késia Dias; DE MIRANDA, Rosana Maria dos Santos Nani et al. Cannabis sativa L.: Crop Management and Abiotic Factors That Affect Phytocannabinoid Production. Online. *Agronomy*. 2022, vol. 12, no. 7, s. 1492. ISSN 2073-4395. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/agronomy12071492. [cit. 2025-12-01].

[9] JOHN M. MCPARTLAND. A review of Cannabis diseases. Online. 1996, vol. 3, no. 1, s. 19-23. [cit. 2025-12-01].

[10] DUSSY, Franz E.; HAMBERG, Cornelia; LUGINBÜHL, Marco; SCHWERZMANN, Thomas a BRIELLMANN, Thomas A. Isolation of Δ9-THCA-A from hemp and analytical aspects concerning the determination of Δ9-THC in cannabis products. Online. *Forensic Science International*. 2005, vol. 149, no. 1, s. 3-10. ISSN 0379-0738. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.05.015. [cit. 2025-12-03].

[11]MUIR, Luette S; DOUMIT, Sarah E; SEITHER, Joshua Z; KNITTEL, Jessica L; WALTERSCHEID, Jeffrey P et al. Comprehensive LC–MS-MS analysis of THC isomers, analogs, homologs, and metabolites in blood and urine. Online. Journal of Analytical Toxicology. 2025, vol. 49, no. 5, s. 322-331. ISSN 0146-4760. Dostupné z: https://doi.org/10.1093/jat/bkaf023. [cit. 2026-01-09].

Seznam použitých symbolů a zkratek

Symbol	Veličina / Zkratka	Jednotka
ANOVA	jednofaktorová analýza rozptylu (Analysis of Variance)	
AV ČR	Akademie věd České republiky	–
CBC	Kanabichromén	–
CBCA	Kanabichromenová kyselina	–
CBCV	Kanabichromavarin	–
CBD	Kanabidiol	–
CBDA	Kanabidiolová kyselina	–
CBDP	Kanabidiphorol	–
CBDV	Kanabidivarin	–
CBDVA	Kanabidivarinová kyselina	–
CBG	Kanabigerol	–
CBGA	Kanabigerolová kyselina	–
CBGV	Kanabigerovarin	–
CBL	Kanabilon	–
CBLA	Kanabilonová kyselina	–
CBN	Kanabinol	–
CBNA	Kanabinolová kyselina	–
CBT	Kanabicitran	–
ČR	Česká republika	–
ESI	Ionizace elektrosprejem (Electrospray Ionization)	–

FDR	Míra falešných objevů (False Discovery Rate)	–
FoCp	Ošetření nanoemulzí fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu	–
FWHM	Šířka píku v polovině výšky (Full Width at Half Maximum)	–
GC	Plynová chromatografie (Gas Chromatography)	–
HHC	Hexahydrokanabinol	–
HRMS	Vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie (High-Resolution Mass Spectrometry)	–
ISR	Indukovaná systémová rezistence (Induced Systemic Resistance)	–
JA	Kyselina jasmonová (Jasmonic Acid)	–
LC	Kapalinová chromatografie (Liquid Chromatography)	–
LC-MS/MS	Kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií	–
LSD	Nejmenší statisticky průkazný rozdíl (Least Significant Difference)	–
m/z	Poměr hmotnosti a náboje iontu	–
MS	Hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry)	–
RT	Retenční čas (Retention Time)	
SA	Kyselina salicylová (Salicylic Acid)	–
THC	Tetrahydrokanabinol (Δ9-THC)	–
THCA	Tetrahydrokanabinolová kyselina (Δ9-THCA-A)	–
THCV	Tetrahydrokanabinovarin	–
THCVA	Tetrahydrokanabinavarinová kyselina	–
U-HPLC-	Ultra-účinná kapalinová chromatografie spojená s	–

HRMS	vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií
UHPLC / UPLC	Ultra-účinná kapalinová chromatografie (Ultra-High Performance Liquid Chromatography) –
UV-B	Ultrafialové záření B
VŠCHT	Vysoká škola chemicko-technologická v Praze –
v/v	Objemový poměr
w/w	Hmotnostní poměr

Seznam obrázků

Obrázek 1 - Konopí seté (Cannabis sativa) (Zdroj: Wikipedie).....14
Obrázek 2 - Konopí indické (Cannabis indica Lam.) (Zdroj: Wikipedie).....15
Obrázek 3 - Konopí rumištní (Zdroj: Wikipedie).....16
Obrázek 4 - Schéma aktivace obranného genu Cannabis sativa (Zdroj: ResearchGate) 18
Obrázek 5 - Strukturní vzorce CBN.....20
Obrázek 6 - Strukturní vzorce THC - Δ^9.....20
Obrázek 7 - Strukturní vzorce THC - Δ^8.....20
Obrázek 8 - Strukturní vzorce CBD.....21
Obrázek 9 - Strukturní vzorce CBG.....21
Obrázek 10 - Strukturní vzorce CBC.....21
Obrázek 11 - Možnosti číslování kanabinoidů.....22
Obrázek 12 - dekarboxylace THCA.....27
Obrázek 13 - Homogenizace.....30
Obrázek 14 - Třepačka.....31
Obrázek 15 - Odměrné baňky.....31
Obrázek 16- UPLC-HMRS.....32
Obrázek 17 – koláčové grafy – 4 skupiny.....38
Obrázek 18 - Průměrné koncentrace fytokanabinoidů a výsledky ANOVA.....39
Obrázek 19 – Celkový obsah fytokanabinoidů.....40
Obrázek 20 - Průběh koncentrací CBDA a CBD napříč skupinami.....43
Obrázek 21 - Průběh koncentrací CBNA napříč skupinami.....44
Obrázek 22 - Boxplot CBNA.....44
Obrázek 23 - Průběh koncentrací CBCA napříč skupinami.....45
Obrázek 24 - Průběh koncentrací CBG napříč skupinami.....46
Obrázek 25 - Průběh koncentrací Δ9-THCA-A napříč skupinami.....47
Obrázek 26 - Průběh koncentrací cis-Δ9-THC napříč skupinami.....48
Obrázek 27 - Průběh koncentrací CBGA napříč skupinami.....49

Seznam tabulek

Tabulka 1 – Směsné koncentrace standardů.....34
Tabulka 2 – Nejistoty v závislosti na koncentraci.....37
Tabulka 3 - ANOVA.....40

Seznam příloh

1. Fytokanabinoidní profil konopí v excelu
   (název souboru: Data_Grafy_ROP_YAO_TLA4)