ביסוס גידול האמפ (*Cannabis sativa* L.) כגידול שדה חקלאי תעשייתי חדש בישראל

עופר גורן[1], שמעון פרגמניק[2], שבתאי כהן[3], שאול גרף[4], משה פליישמן[5]

[1]שה"מ, משרד החקלאות ופיתוח הכפר, חוקר ראשי, ריכוז הפרויקט, בחינת גידול האמפ בחוות לכיש,
דוא"ל ofergor@shaham.moag.gov.il
[2]שה"מ, משרד החקלאות ופיתוח הכפר בחינת גידול האמפ בחוות לכיש. דוא"ל shimonp-sha@shaham.moag.gov.il
[3]מו"פ ערבה תיכונה וצפונית תמר, בחינת האמפ בתחנת יאיר, אימייל sab@inter.net.il
[4]מו"פ צפון, בחינת גידול האמפ בחוות אבני איתן, אימייל shaoulgraph@gmail.com
[5]המח' למדעי עצי הפרי, המכון למדעי הצמח, מנהל המחקר החקלאי, יבוא זרעים ויצירת סמנים לבידול האמפ מקנאביס,
אימייל vhmoshea@agri.gov.il

מאחר וצמח הקנביס ובכלל זה ההאמפ ותוצריו מוגדרים כ"סם מסוכן", כל הפעילות במחקר זה נעשתה ונעשית בהתאם להנחיות ואישורי היחידה לקנביס רפואי-יק"ר, במשרד הבריאות (רישוי : אתרי המחקר, צוות המחקר, יבוא הזרעים, טיפול בחומר הצמחי ותוצריו, שינוע, אחסון, בדיקות ועוד).

תקציר

שני זני האמפ נבחנו בשלושה אזורי גידול (ערבה תיכונה ,מישור החוף ורמת הגולן) ובמספר מועדי זריעה לשם ייצור זרעים והפקת שמן. לאור קשיי נביטה של הזן SUO-31 (המכונה 109), נעשתה בחינת הגידול בזן 'פינולה' (המכונה להלן 108). נתקבלה שונות רבה ביבול הזרעים שנעה מ-18 ק"ג/ד'/מזרע בערבה ל-140 ק"ג/ד'/מזרע בגולן. בבדיקת תכולת קנבינואידים נמצא כי רמת ה-CBD משתנה בין אזורי הגידול ולאורך תקופת הגידול. נמצא כי בערבה עקב תנאי העקה היבול היה נמוך מאוד וכן כמעט שלא נוצרו קנבינואידים ובכלל זה CBD. בלכיש התקבלו רמות CBDA גבוהות יחסית, של כ-3%, בהשוואה ל כ-0.01% בערבה ולתכולה בטווח 0.2%-1.6% בגולן. בבחינת עיתוי איסוף תפרחות, ברמת הגולן, לאחר 7 שבועות מזריעה, נראתה תכולת ה-CBDA הגבוהה ביותר, 1.6%. כמו כן ברמת הגולן התקבלה כמות גבוהה יחסית של קרוב ל-0.5% THC בצמחים בתחילת הגידול. איכות השמן לא הושפעה מאזור הגידול. עם זאת, קיימים הבדלים לא גדולים אך מובהקים בתכולת חומצות שומן ספציפיות אשר מהוות מדדי מפתח באיכות השמן. הרכב השמן הושפע ממועד הזריעה. נבחנו שיטות לאיפיון סמנים לקנבינואידים בצמחי האמפ באמצעות PCR ואנליזת הרכב קנבינואידים באמצעות HPLC.

מטרת המחקר:

מטרת העל של המחקר היא בחינת התכנות גידול האמפ בישראל כגידול שדה תעשייתי והרחבת סל הגידולים בתחום גידולי השדה. בתוכנית המוצעת מספר מטרות משנה:

1. הקמת מאגר זני האמפ מצטיינים בעלי ריכוז נמוך (>0.3%) של הקנבינואיד THC בעל האפקט הפסיכואקטיבי לצורך ביסוס גידול חקלאי ליצירת שמן.
2. פיתוח פרוטוקולי גידול האמפ ובחינת יבולי ההאמפ שמתקבלים באזורי הגידול השונים.
3. פיתוח שיטות להפקה של זרעים ושמן מצמחי ההאמפ התעשייתי ובחינת איכויות.
4. פיתוח מערכת שתאפשר ביקורת על שדות ההאמפ למניעת גידול קנביס לצרכי סם.

מאחר ומדובר בבחינה ראשונית וב-screening ראשוני, התכנית המוצעת באה לבחון את השפעת שלושה אזורי גידול בעלי אופי אקלימי שונה על מאפייני צמח ההאמפ, תכולת הזרעים, ייצור שמן ואיכותו (דרום הארץ, מישור החוף וצפון הארץ).

תוצרי המחקר:

1. ברור והתאמת זני האמפ לגידול בתנאי האקלים בישראל במטרה לייצר זרעים איכותיים המותאמים ליצור שמן.
2. פתוח סמנים לבידול צמחי ההאמפ מצמחי הקנביס, מה שיאפשר לרשויות החוק לבחון את שדות הגידול ולוודא שהרכב הצמחי שבו אינו משמש ליצירת סמים.
3. פיתוח מגוון מוצרים מזרעי ההאמפ באזורי הגידול השונים ובחינת אזורי גידול מיטביים.

<u>חשיבות המחקר:</u>

גידולי השדה בישראל (המשתרעים על יותר מ-50% משטחי החקלאות הצמחית) מתבססים על סל גידולים קבוע. קיים צורך (חקלאי וכלכלי) בהגדלת מגוון הגידולים ולכן מתבצע במו"פ החקלאי חיפוש מתמיד אחר גידולים חדשים שניתן יהיה להכלילם בסל גידולי השדה בישראל. כגידול שדה חקלאי תעשייתי ומודרני. גידול ההאמפ (*Cannabis sativa* L.) קיים באירופה (מעל 250,000 דונם), ארה"ב, קנדה, אוסטרליה, ועוד, ומשמש כגידול שתוצריו מרובים: זרעים כתוסף מזון, סיבים לתעשיית הנייר, שבבים המופקים מחלקו הפנימי של הגבעול המשמשים כחומר רפד במשק החי ,שמן המופק מהזרעים המשמש כתוסף מזון לאדם ולחי ועוד.

צמחי הקנביס מסוג האמפ גודלו ע"י האדם לאורך ההיסטוריה, ושמן האמפ נמצא בשימוש בסין למזון ולרפואה מזה כ-3000 שנה. זרעי האמפ מכילים כ- 30% שמן, אשר מכיל בין היתר שתי חומצות שומן חיוניות אשר אינן מיוצרות ע"י האדם, חומצה לינולאית (C18:2) וחומצה אלפא לינולנית (C18:3) [1]. ייחודו של ההאמפ הוא ביחס האופטימלי בו חומצות אלה נוכחות בשמן, ולתכונה זו מיוחסות רבות מהשפעותיו התזונתיות והבריאותיות [2]. נוסף על יתרונותיו התזונתיים דווח כי לשמן זה יתרונות בריאותיים רבים, ביניהם שיפור מטבוליזם של שומנים והשפעה חיובית על בריאות הלב ועל מערכת החיסון [2]. על מנת לשמר את יתרונותיו הרבים, יש חשיבות רבה להפקת השמן בתנאי כבישה קרה.

לאור העליה הנוכחית בדרישות הצרכנים לסוגי שמן בריאים, והמודעות הצרכנית הגוברת לתפקיד המזון בבריאות מערכות הגוף, ומאחר ומאפייני הייצור החקלאי בישראל (מגבלות קרקע, מים, עבודה) מכוונות ייצור לתוצרים בעלי ערך מוסף גבוה, התעוררה הסוגיה האם ניתן לשקול גידול תעשייתי של האמפ בישראל על מנת להפיק שמן מזרעיו .

<u>תוצאות המחקר</u>

במחקר נבחנו במקביל ההיבטים האגרונומיים של גידול ההאמפ ופיתוח שיטות אנליטיות לבדיקת קנבינואידים בצמחי ההאמפ.

<u>פיתוח שיטות אנליטיות לבחינת קנבינואידים בצמחי האמפ</u>

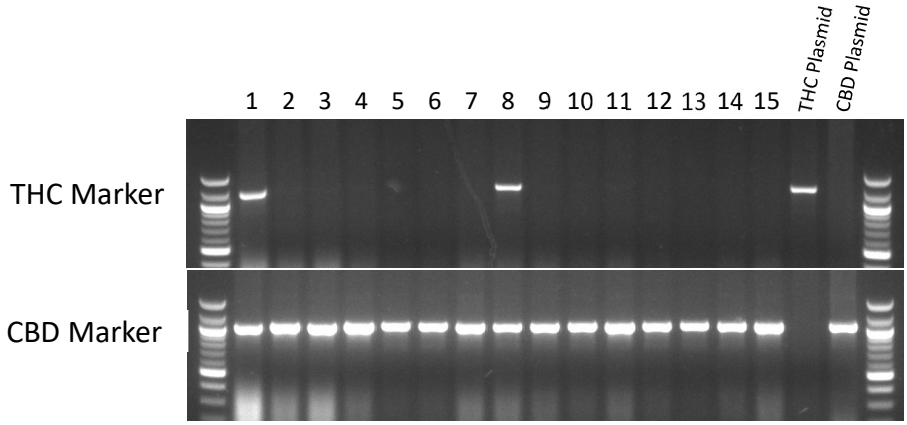
א. <u>איפיון הקנבינואידים THC ו-CBD בצמחי 108 באמצעות סמני PCR</u>

לצורך זיהוי קנבינואידים בצמחי האמפ זן 108, DNA הופק מ- 15 צמחים אקראים וסמני PCR לזיהוי THCA Synthase ו- CBDA Synthase הופעלו (ראו טבלה 1). הסמנים הם זוגות פריימרים שנלקחו מעבודה של Welling et.al 2016.

<u>טבלה 1.</u> סמנים לזיהוי הגנים THCA Synthase ו- CBDA Synthase

	Forward Primer	Revers Primer
THCAS Marker	AAGAAAGTTGGCTTGCAG	TTAGGACTCGCATGATTAGTTTTTC
CBDAS Marker	AAGAAAGTTGGCTTGCAG	ATCCAGTTTAGATGCTTTTCGT

כביקורות שימשו פלסמידים המכילים את מקטע הגן המלא של כל אחת מהסינטאזות. ניתן לראות כי דוגמאות 1 ו-8 יצאו חיוביות ל-THCAS, וכי כל הדוגמאות חיוביות ל CBDAS (תמונה 1).



<u>תמונה 1:</u> סמני THC ו-CBD בהשוואה לביקרת הפלסמידים

מציאות הסמן ל-THC בזן 108 הופיע בתדירות של 15:2. עובדה זו מעידה כי הזרעים אינם אחידים. זו תוצאה מצופה בזרעים שמקורם בחומר הטרוזיגוטי. חוסר אחידות הזרעים ניכר גם במראה הצמחים בגידול בכל אחד מהאזורים בהם הם נבחנו. יש לציין כי מציאות הסמן בצמחים אינה מעידה על רמות הביטוי של הקנבינואידים השונים ולכן נדרשנו לפתח שיטה נוספת של בחינה ישירה של הרכב הקנבינואידים בצמחים.

ב. <u>איפיון הקנבינואידים THC ו-CBD בצמחי 108 באמצעות HPLC</u>

בכדי לקבוע את רמות הקנבינואידים בצמחים יש לבחון זאת באמצעות HPLC. פיתחנו במעבדתנו בחינה של קנבינואידים במכשיר HPLC. הכנת הדוגמאות נעשתה בדופליקטים (בהתאם לפרוטוקול שמצוי במעבדתנו). כמות ידועה של עלים/תפרחות נטחנו לאבקה והועברה למבחנה למיצוי באתנול. הדוגמה סוננה ונמהלה ביחס 10:1 עבור עלים, וביחס 20:1 עבור תפרחות, והורצה במכשיר ה- HPLC. **פירוט הקנבינואידים מצוי בטבלה 3. ניתן לראות כי בזנים השונים יש רמת THC נמוכה. נראה שבזן 109 יש רמה גבוה יותר של שני הקנבינואידים מבזן 108. עוד נמצא כי בשני זני ההאמפ מצוי הקנבינואיד CBD בריכוזים של 1.8 ו-4.1 אחוזים בזנים 108 ו-109 בהתאמה.**

טבלה 2: הרכב קנבינואידים בזני ההאמפ

Hemp cultivar	*THCA*	*THC*	*CBDA*	*CBD*	*Total THC*	*Total CBD*
108	0.05	n.a	1.7	0.1	0.05	1.8
109	0.55	n.a.	.124	n.a.	0.55	4.12

היבטים אגרונומיים של גידול ההאמפ

יבוא זרעים ובדיקות כושר נביטה: במהלך פברואר 2017 החל הליך ליבוא זרעי האמפ לישראל. באוקטובר 2017 הגיעו לישראל זרעים של שני זנים: 'פינולה' (המכונה להלן 108) ו-SUO-31 (המכונה 109) שמקורם במזרח אירופה. שני הזנים אינם רגישים לאורך יום. הזרעים הגיעו עם תעודה פיטוסניטרית חלקית ולכן עברו בדיקות בהתאם לדרישות ההשירותים להגנת הצומח וביקורת במשרד החקלאות ופיתוח הכפר. עם סיום הבדיקות נקבע שהזרעים אינם נגועים במחלות מזיקים ועשבים רעים וניתן להשתמש בהם לצרכי הניסיונות בחוות הגידול השונות.

לאור המורכבות ביבוא הזרעים והליך אישור השימוש בהם, תחילת ביצוע הניסויים בשלושת אתרי המחקר נדחתה מהתוכנית המקורית לאביב 2018.

לפני ההעברה לחוות הגידול השונות בוצעו בדיקות כושר נביטה של הזרעים במתקן הגידול לקנביס במנהל המחקר החקלאי. בזן 108 נמצא כושר נביטה של 60% (תמונה 2). לעומת זאת בזן 109 התקבלו 2% נביטה בלבד. אי לכך, מרבית הדיווח בהמשך מתבסס על התוצאות שנתקבלו בניסיונות השדה מהזן 108.

תמונה 2: נביטה של זרעי הזן 108, 4 ימים לאחר זריעה, בטמפרטורה של 24 מ"צ.

בחינת הזנים נעשתה בתחילה בתנאים מבוקרים ולאחר מכן בתנאי שדה בשלושת חוות הגידול.

איפיון גידול של הזן 108 בתנאים מבוקרים: לפני העברת זרעים לתחנות הניסוי הזן 108 גדל בתנאים מבוקרים במתקן הגידול המאושר במנהל המחקר החקלאי. בניגוד לזני האמפ אחרים (כולל קנביס) הפורחים בהשפעת חשיפה ליום קצר (כאשר שעות האור ביממה פוחתות מ- 12), הזן **108** **פרח בין 4-6 שבועות מזריעה ללא תלות באורך היום**. הצמח הוא חד ביתי והתקבלו בו צמחים עם פריחה זכרית

(תמונה 2) ונקבית בצמחים נפרדים. תפרחות נקביות ללא זרעים מופיעות 5 שבועות. התפרחות בתמונה כ-3 חודשים מזריעה (תמונה 3).

תמונה 3. זכר של הזן 108, בתחילת פריחה במפרק הרביעי, כארבעה שבועות מזריעה, שגדל במשטר תאורה של 20 שעות אור. תפרחות נקביות כ-3 חודשים מזריעה.

איפיון הגידול בתנאי שדה בשטחי חוות הגידול: הזן 109 נבט בשיעורים מאוד נמוכים וממנו נבטו מספר צמחים בודדים שגודלו בשלושת אתרי הניסוי לצורך מעקב אחר מאפייני הזן בלבד. לזן 108 שיעור נביטה, בתנאי שדה, של כ- 50%. מתוך הצמחים תיאורתית 50% הינם צמחים בעלי תפרחת זכרית בלבד אשר אינם משמשים ליצירת זרעים. נביטת הזן מהירה, בתוך מספר ימים בודדים, ותוך כ-10 יום עד שבועיים החלו ניצני פריחה, תחילה זכריים ואח"כ נקביים. כ- 30 יום לאחר הנביטה צמחי הזכר החלו להצהיב ולהתייבש ואילו צמחי הנקבה המשיכו לפרוח לכל אורך הניסוי. כלומר, צמח 'לא מסיים'. גובה הצמחים המרבי כ- 60 ס"מ, אם כי התקיימה שונות רבה בין הצמחים בניסויים (תמונות 6-13, המתארות את הגידול בשטחי המחקר, ניתן לראות בסוף המסמך)

מועדי הזריעה שנבחנו: ב***אבני איתן*** נבחנו 4 מועדי זריעה: 20.3.18, 1.5.18, 5.6.18, 15.7.18. ב***ערבה תיכונה*** 26/3/2018. בחוות ***לכיש*** 16/5/2018 (מזרע המועד הראשון 26/3/2018 נכשל עקב תנאי גידול בעיתיים).

עומדים שנבחנו: בערבה ובלכיש ובאבני איתן (מועד א' בלבד), הזריעה בוצעה באופן ידני, על ערוגות ברוחב 1.6 מטר, בערבה שתי שורות ובשני האתרים האחרים שני צמדי שורות משני צידי שתי שלוחות טפטוף. הכוונה הראשונית היתה לזרוע לעומד הגבוה המתוכנן ושני טיפולים לדלל לעומדים הנמוכים יותר, סה"כ 3 עומדים: ב***ערבה*** 50, 100, 150 צמחים למ"ר. ב***אבני איתן*** ו***בלכיש*** 100, 150, 200 צמחים למ"ר. לאור נסיון ומסקנות מהניסויים בשני האתרים המקבילים הוחלט בחוות לכיש שלא לדלל לעומדים הנמוכים ולהשאיר את העומד הגבוה בלבד 200 צמחים למ"ר. יחד עם זאת, עקב תנאי זריעה ואחוזי נביטה לא אופטימליים, נוצרה שונות רבה בעומד הצמחים בין החלקות בניסוי. באבני איתן בשלושת מועדי הזריעה המאוחרים (ב'-ד') הזריעה בוצעה ע"י כלי זריעה (פלנט) ב- 4 שורות על ערוגה, בעומד של 200 צמחים למ"ר בלבד.

יבול הזרעים: ב***אבני איתן*** יבול הזרעים במועד א' היה זניח, כ- 8 ק"ג/דונם, כפי הנראה בגלל גשמים שירדו בזמן הפריחה שיתכן ופגעו באיכות האבקה. במועדים ב' ו-ג' יבול הזרעים הממוצע היה 60 ו-140 ק"ג/דונם בהתאמה. מועד ד' יועד לבדיקות תכולת קנבינואידים בצמחים שלמים והזרעים לא נשקלו.

ב***ערבה*** בשני העומדים הנמוכים יבול הזרעים היה דומה כ- 18 ק"ג/דונם (ומשקל שאר נוף הצמחים כ- 67 ק"ג/דונם). בעומד הגבוה משקל הזרעים 24 ק"ג/דונם (ושאר הנוף 95 ק"ג/דונם).

ב***לכיש*** יבול הזרעים הממוצע היה כ 83 ק"ג/דונם (נע בין 33 ל 119 ק"ג/דונם בין החלקות).

הפקת שמן ובדיקת איכויותיו (**בדיקה מלאה לכלל המדדים הנדרשים ע"י היק"ר** טרם בוצעה ותבוצע בהמשך):

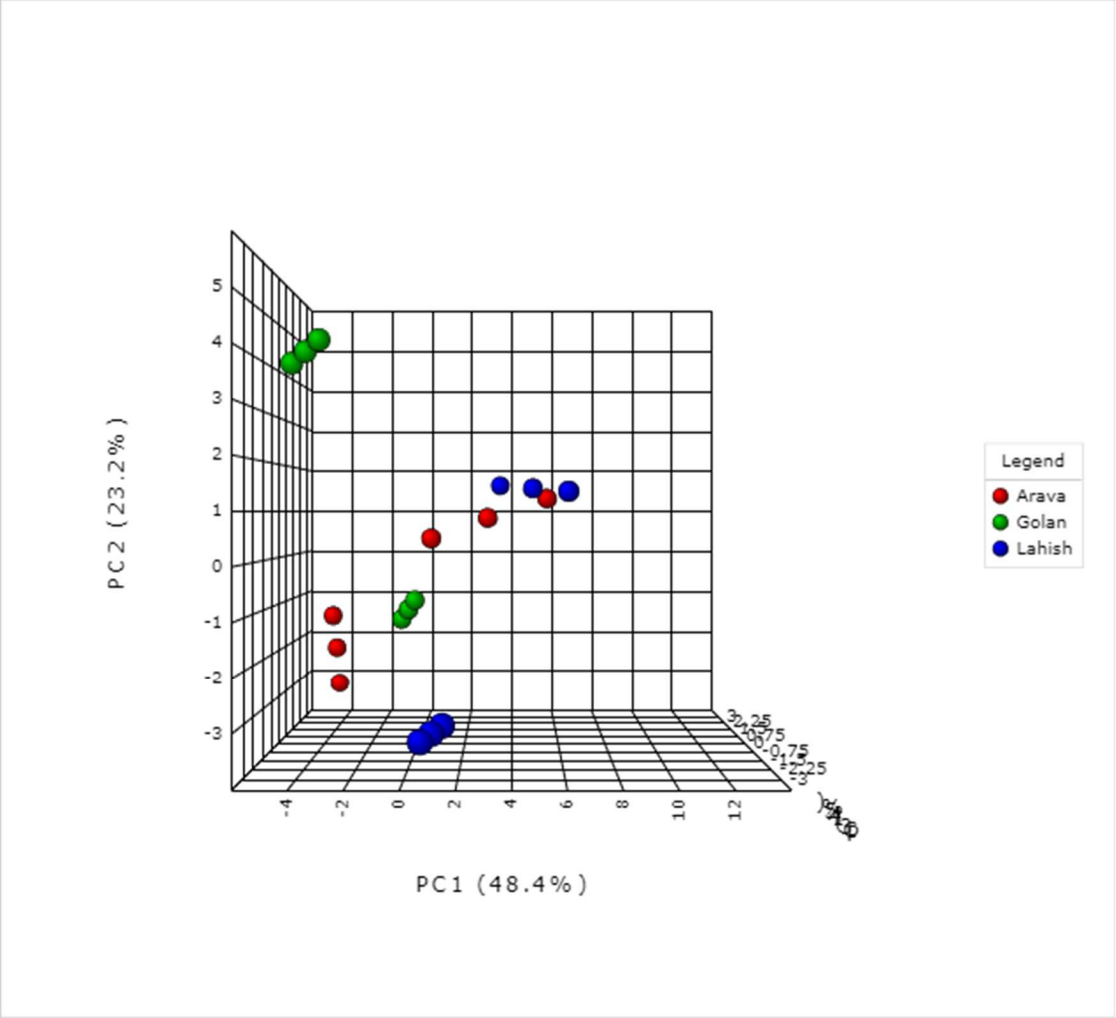
שיטות

- חומר צמחי: השמן הופק בכבישה קרה מזרעים שהתקבלו מניסויים באבני איתן, לכיש והערבה. באבני איתן התקבלו זרעים משלושה מועדים, בשני איזורי הגידול האחרים התקבל מועד גידול אחד. מאבני איתן התקבל שמן משני זנים, 108 ו-109. כל החומר הצמחי שהתקבל שימש להפקת שמן וכן עבר אנליזה לבחינת הרכב חומצות השומן (ר' בהמשך). בשל מבנה הניסוי, לצרכי עיבוד סטטיסטי נעשה שימוש בזן 108 בלבד.
- הרכב חומצות השומן: בשמן שהופק נבדק הרכב חומצות השומן כפי שפרסמנו בעבר [3].
- אנליזה סטטיסטית: עיבוד סטטיסטי של הנתונים התבצע באמצעות תוכנת JMP13.

תוצאות

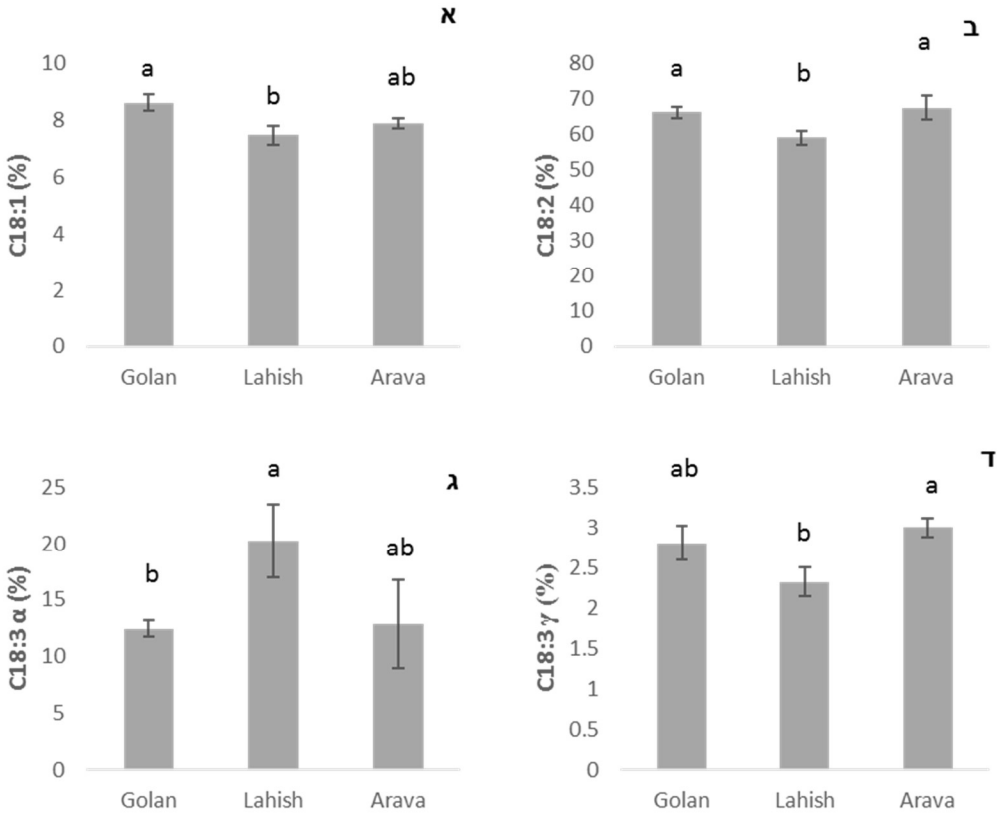
1. השפעת איזור הגידול על איכות השמן

ככלל, **לא נמצאו הבדלים משמעותיים בהרכב השמן מאיזורי גידול שונים** (איור 1).



<u>איור 1</u>. אנליזת PCA של דוגמאות שמן מאיזורי הגידול השונים: גולן, לכיש, ערבה.

עם זאת, **נמצאו הבדלים מובהקים בתכולת חומצות שומן ספציפיות** (טבלה 3), ביניהן חומצה אולאית (איור 2א'), חומצה לינולאית (איור 2ב'), וחומצה אלפא וגמא לינולנית (איור 2ג' ו- 2ד' בהתאמה). יתרה מזאת, נראה כי החומצות שהושפעו מאיזור הגידול היו בעיקר החומצות באורך בינוני- C16 ו- C18, בעוד שעל תכולת החומצות הארוכות יותר לא ניכרה השפעה (טבלה 1).



איור 2. הבדלים בתכולת חומצות שומן ספציפיות בשמן שהופק בכבישה קרה מזרעים שגודלו באיזורי גידול שונים: גולן, לכיש וערבה. (א) חומצה אולאית; (ב) חומצה לינלאית; (ג) חומצה אלפא לינולנית; (ד) חומצה גמא לינולנית.

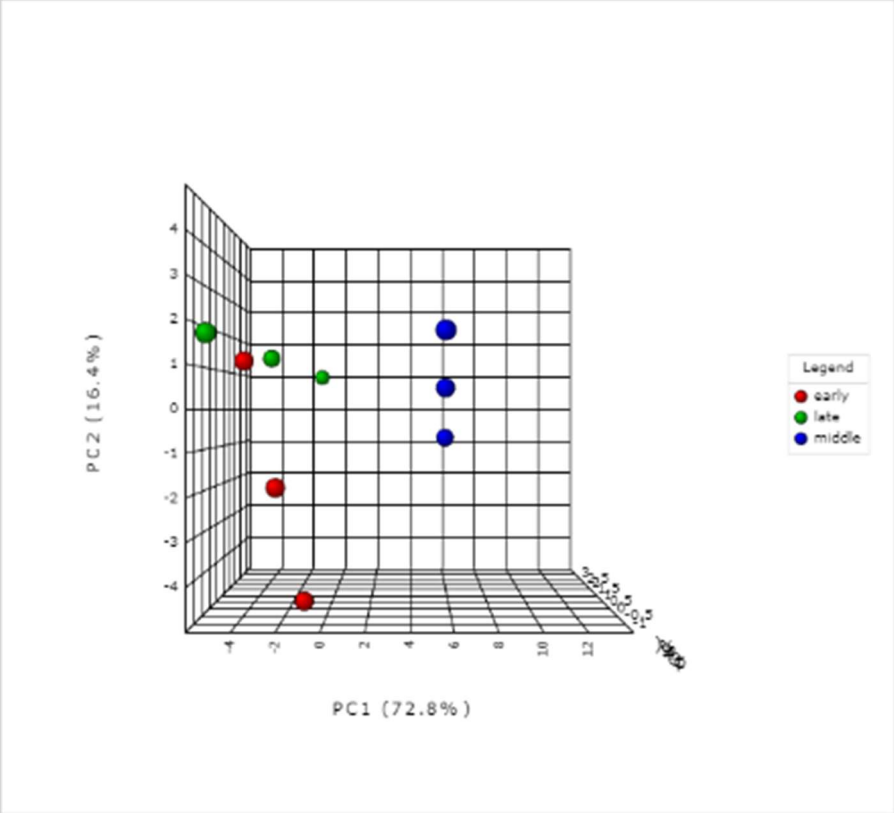
טבלה 3. הרכב חומצות השומן של שמן האמפ שהופק בכבישה קרה מזרעים שגודלו באיזורי גידול שונים: גולן, לכיש וערבה.

	Golan	Lahish	Arava
C16:0	5.96 ± 0.13^{a}	4.6 ± 0.26^{b}	5.53 ± 0.45^{a}
C16:1	0.07 ± 0^{a}	0.06 ± 0^{a}	0.06 ± 0^{a}
C18:0	1.47 ± 0.1^{a}	1.28 ± 0.11^{a}	1.15 ± 0.08^{a}
C18:1	8.62 ± 0.28^{a}	7.48 ± 0.33^{b}	7.91 ± 0.18^{ab}
C18:2	66.27 ± 1.51^{a}	59.05 ± 1.95^{b}	67.57 ± 3.34^{a}
C18:3α	12.44 ± 0.72^{b}	20.23 ± 3.21^{a}	12.83 ± 3.94^{ab}
C18:3γ	2.8 ± 0.21^{ab}	2.32 ± 0.18^{b}	$3.0\pm.12^{a}$
C20:1	0.46 ± 0.11^{a}	0.22 ± 0.02^{a}	0.24 ± 0.0^{a}
C22:0	0.33 ± 0.02^{a}	0.25 ± 0.01^{a}	0.29 ± 0.02^{a}

2. השפעת מועד הזריעה על איכות השמן

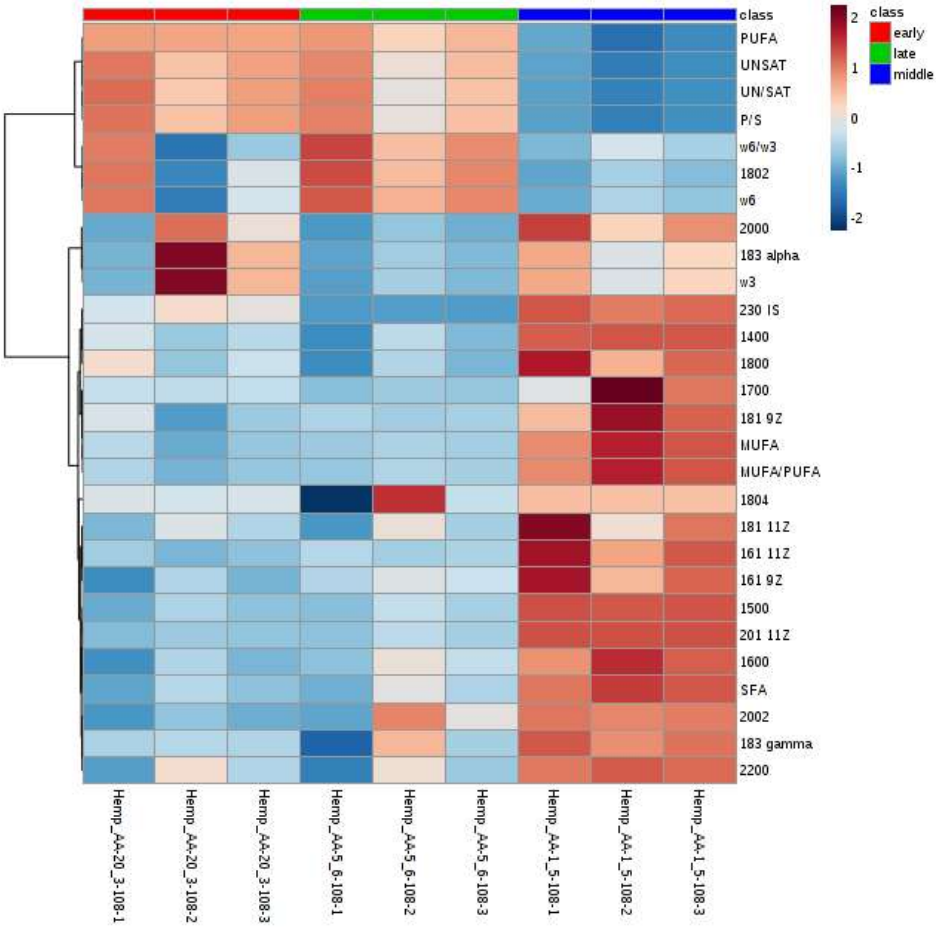
השפעת מועד הקטיף על איכות שמן האמפ נבחנה בזן 108 ובאיזור גידול גולן בלבד, בשל מגבלות מבנה הניסוי. לפיכך יש להתייחס לתוצאות כתקפות לתנאים אלה, ובהמשך יהיה צורך לאשש או להפריך את תקפותן ביחס לזנים אחרים ואיזורי גידול נוספים.

ככלל, התוצאות מראות כי הרכב השמן שהופק מזרעי צמחים ששנזרעו במועד הזריעה האמצעי (1.5) הוא בעל הרכב שונה מזה של השמן שהופק מזרעים ממועד הזריעה המוקדם והמאוחר (20.3 ו- 5.6 בהתאמה), אשר לא נבדלו משמעותית זה מזה (איור 3).



איור 3. אנליזת PCA של דוגמאות שמן ממועדי זריעה שונים : מקדם (20.3), אמצעי (1.5) ומאוחר (5.6).

ניתן לראות כי מדדי האיכות העיקריים בהם נבדל מועד הזריעה האמצעי הם תכולה נמכה יחסית של חומצות שומן בלתי רוויות (UNSAT), ובמיוחד רב בלתי רוויות (PUFA), ובהתאמה יחס נמוך בין חומצות שומן בלתי רוויות לרוויות (UN/SAT) ויחס נמוך בין חומצות רב בלתי רוויות לרוויות (P/S) (איור 4). מקורם של רוב ההבדלים האלה הוא בכך שבמועד זה תכולת חומצת השומן C18:2 (לינולאית) נמוכה ביחס לשני המועדים האחרים (טבלה 4, איור 4). מנגד, במועד זה תכולת כל חומצות השומן האחרות גבוהה יותר ביחס לשני המועדים האחרים (טבלה 4, איור 4).



<u>איור 4</u>. תכולת חומצות שומן בלתי רוויות (UNSAT), רב בלתי רוויות (PUFA), חומצות שומן רוויות (SAT) והיחס בין חומצות שומן בלתי רוויות לרוויות (UN/SAT) ויחס בין חומצות רב בלתי רוויות לרוויות (P/S) כתלות במועדי הזריעה.

<u>טבלה 4</u>. הרכב חומצות השומן של שמן האמפ שהופק בכבישה קרה מזרעים אשר נזרעו במועדי זריעה שונים: מוקדם (20.3), אמצעי (1.5) ומאוחר (5.6).

	Early	Middle	Late
C16:0	5.09 ± 0.10^{b}	5.96 ± 0.13^{a}	5.19 ± 0.11^{b}
C16:1	0.05 ± 0.0^{b}	0.07 ± 0.0^{a}	0.05 ± 0.0^{b}
C18:0	1.35 ± 0.08^{a}	1.47 ± 0.10^{a}	1.30 ± 0.08^{a}
C18:1	8.10 ± 0.11^{a}	8.62 ± 0.28^{a}	8.11 ± 0.13^{a}
C18:2	68.54 ± 1.81^{ab}	66.27 ± 1.51^{b}	72.96 ± 1.45^{a}
C18:3α	12.40 ± 1.56^{a}	12.44 ± 0.72^{a}	$8.12\pm0.86b$
C18:3γ	2.57 ± 0.09^{a}	2.80 ± 0.21^{a}	2.44 ± 0.16^{a}
C20:1	0.23 ± 0.02^{b}	0.46 ± 0.11^{a}	0.25 ± 0.03^{ab}
C22:0	0.27 ± 0.01^{ab}	0.33 ± 0.02^{a}	0.25 ± 0.02^{b}

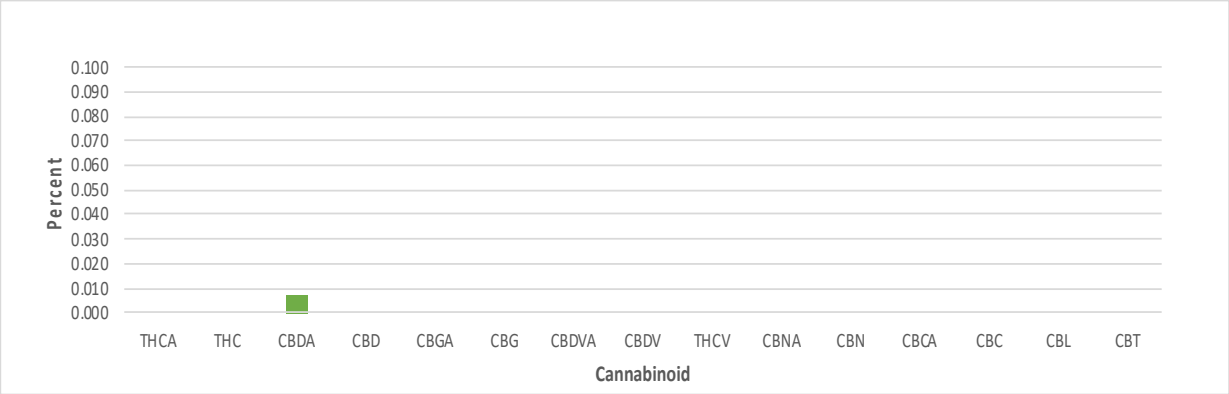
<u>בחינת יצירת קנבינואידים בתפרחות באזורי הגידול השונים</u>

הרכב הקנבינואידים בתפרחות הזן 108 שגדל באזורי הגידול השונים נבחן באמצעות HPLC.

א. תפרחות מהערבה

בתמונה מס׳ 3 ניתן לראות את הרכב הקנבינואידים מתפרחות של זן האמפ 108 שגדל בערבה. ניתן לזהות בתפרחות אלו הרכב נמוך ביותר של הקנבנינואיד CBDA. לא ניתן לראות כלל יצירה של

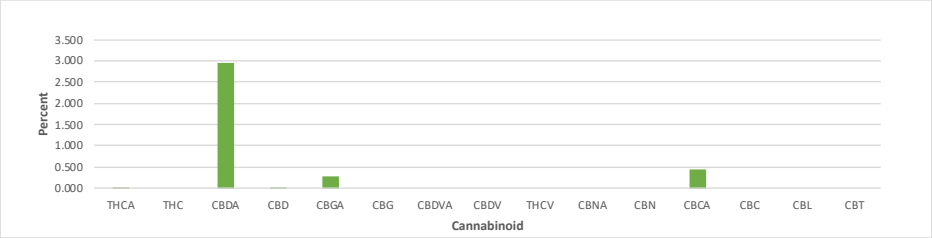
הקנבינואיד הפסיכואקטיבי THC. נראה כי תחת גידול בתנאי חום גבוה לא מתפתחים קנבינואידים בתפרחות.



תמונה 3. הרכב קנבינואידים בתפרחות 108 שגדלו בערבה.

ב. תפרחות מלכיש

בתמונה 4 ניתן לראות את הרכב הקנבינואידים מתפרחות של זן האמפ 108 שגדל בלכיש. ניתן לזהות בתפרחות אלו הרכב של כ- 3% CBDA. לא ניתן לראות כלל יצירה של הקנבינואיד הפסיכואקטיבי THC. ניתן לראות בנוסף רמות נמוכות של הקנבינואידים CBCA ו-CBGA.



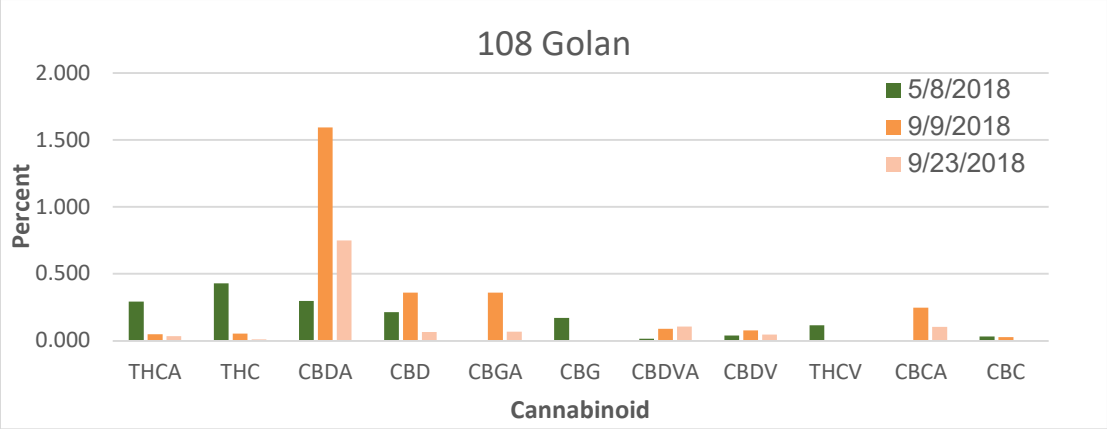
תמונה 4. הרכב קנבינואידים בתפרחות 108 שגדלו בלכיש.

יש לציין כי בשני האזורים הרכב הקנבנינואידים נבחן בתפרחות שנאספו בעת קצירת הצמחים ואיסוף הזרעים.

ג. תפרחות מגידול ברמת הגולן

בכדי לבחון את השתנות הרכב הקנבינואידים במהלך גידול הצמחים נאספו תפרחות בשלבי התפתחות שונות. תפרחות צעירות כ-3 שבועות לאחר זריעה, תפרחות לאחר 7 שבועות ותפרחות בעת קציר הצמחים כ-9 שבועות מהזריעה.

בתמונה 5, ניתן לראות את השתנות הרכב הקנבינואידים בצמחים לאורך תקופת הגידול.



תמונה 5. הרכב קנבינואידים בתפרחות 108 שגדלו בגולן.

מנתוני הרכב הקנבינואידים באזורי הגידול ניתן לראות שתנאי הגידול באזורים השונים משפיעים על הרכב הקנבינואידים בצמח. הקנבינואיד המבוקש בצמחי האמפ הוא CBD. רמת ה-CBD משתנה בין אזורי הגידול ולאורך תקופת הגידול. נמצא כי בערבה עקב תנאי העקה כמעט שלא נצרו קנבינואידים ובכלל זה CBD. בלכיש התקבלו רמות CBD גבוהות יחסית בהשוואה לשני אזורי הגידול האחרים. ברמת הגולן באיסוף תפרחות לאחר 7 שבועות מזריעה נראה תכולת ה-CBD הגבוהה ביותר, 1.6%. כמו כן ברמת הגולן התקבלה תכולה גבוהה יחסית של קרוב ל-0.5% THC בצמחים בתחילת הגידול.

פיתוח מערכת שתאפשר ביקורת על שדות האמפ למניעת גידול קנביס לצרכי סם.

שיטות האיפיון שפיתחנו במסגרת שנת העבודה הראשונה של סמנים לקנבינואידים באמצעות PCR ואנליזת הרכב קנבינואידים באמצעות HPLC תאפשר בחינה לצרכי ביקורת בשדות ההאמפ. בשלב ראשון יש לבחון את השדה ולזהות בו צמחים חריגים מבחינת מורפולוגית. צמחים אלו ישמשו לבדיקה בשתי המערכות הביוכימיות שברשותנו.יחד עם צמחי ביקורת שהם אלה שמראים את המופע המורפולוגי הרגיל של זני ההאמפ. ניתן להפעיל את הבדיקות הנ"ל על עלים ופרחים כאחד. בשתי מערכות אלו ניתן לקבל תוצאות מדויקות ומהירות.

סיכום:

מטרת הניסוי בשנה הראשונה למחקר היא לימוד אגרוטכניקת הגידול, הכרת צמח ההאמפ, ובדיקת התאמתו כגידול שדה באזורי גידול שונים בארץ ובמקביל, פיתוח שיטות אנליטיות לזיהוי קנבינואידים בצמח.

מאפייני אגרוטכניקה, צימוח וגידול: נתקבלה שונות רבה מאד ביבול הזרעים כתלות באזור הגידול (נמוך ביותר בערבה, גבוה ביותר בגולן), וכתלות במועד הזריעה. מתוצאות היבול עולה כי בזן 108 יש לזרוע בצפיפות רבה יותר ובשורות רבות יותר, יתכן בין 5 ל-7 שורות לערוגה, באופן זה תיווצר חלוקה טובה יותר של צמחים על פני הערוגה ויתכן כי תופחת התחרות על אור בנוף הצמחים ותחרות בבית השורשים בין הצמחים ובאופן זה יהיה ניתן לקבל כנראה תוצאת יבול טובה יותר. בערבה יש לבדוק תאריכי זריעה חורפיים וסתווים כדי לקבל את התנהגות וביצועי הצמח בתנאי אקלים שונים. יבול הזרעים בגולן היה מיטבי במועד הזריעה בתחילת יוני ועמד על 140 ק"ג/ד'/מזרע. בערבה נתקבל יבול זרעים נמוך של כ-18 ק"ג/ד'/מזרע, בשני מועדי המזרע. בלכיש היה יבול ממוצע של כ-83 ק"ג/ד'/מזרע (שונות רבה בין חלקות הניסוי שנעו בין 33-119 ק"ג/ד'/מזרע).

מאפייני איכות השמן

השפעת איזור הגידול - התוצאות מראות כי ככלל לאיזור הגידול אין השפעה על איכות השמן, ועל כן ניתן לגדל אותו באיזורי גידול שונים בארץ בהתאם לאפשרויות החקלאיות. עם זאת, קיימים הבדלים לא גדולים אך מובהקים בתכולת חומצות שומן ספציפיות אשר מהוות מדדי מפתח באיכות השמן, ביניהן C18:2 ו- α C18:3. כיוון ששמן האמפ מיועד לשיווק כשמן בוטיק בעל הרכב ייחודי, ניתן יהיה למתג שמן מאיזורים שונים כבעל תכונות ייחודיות, למטרות שיווק ואפיון השמן כמוצר בריאות. חשוב להדגיש כי התוצאות המוצגות רלוונטיות לזן 108 בלבד וכי התוצאות הן פרי אנליזה של שנת גידול אחת. יש צורך לחזור על הניסוי ולאשש את הממצאים עבור עונת גידול נוספת ועבור זנים נוספים, כיוון שדווח כי עשויים להיות הבדלים משמעותיים בהרכב השמן בין איזורי גידול שונים [4].

השפעת מועד הזריעה - התוצאות מראות כי שמן שהופק מזרעים ממועד הזריעה האמצעי (1.5) של הזן 108 בגולן היה בעל הרכב שונה מזה של שני מועדי הזריעה האחרים. מחד הרכב זה הוא בעל יתרונות בריאותיים, בשל התכולה הגבוהה יותר של חומצות שומן אלפא לינולנית C18:3α (חומצת שומן ω-3) וחומצת שומן גמא לינולנית C18:3γ, ויחס גבוה בין תכולת כלל החומצות החד בלתי רוויות לרב בלתי רוויות (MUFA/PUFA). מנגד, היחס בין תכולת חומצות השומן הרב בלתי רוויות לחומצות הרוויות (P/S), בו מועדפים מבחינה בריאותית ערכים גבוהים יותר, נמוך יותר במועד זה, כמו גם יחס כלל החומצות הבלתי רוויות לרוויות (UNSAT/SAT). כאמור, יש לסייג את המסקנות לזן 108 אשר גודל בגולן בלבד, ויש צורך לחזור על הניסוי עבור זנים ואיזורי גידול נוספים.
כמו כן בהמשך יש צורך להעריך מדדי איכות נוספים, דוגמת תכולת טקופרולים, קרוטנואידים וכלורופיל בשמן, וכן חשוב למדוד את יציבותו החמצונית [5].

הרכב הקנבינואידים בתפרחות

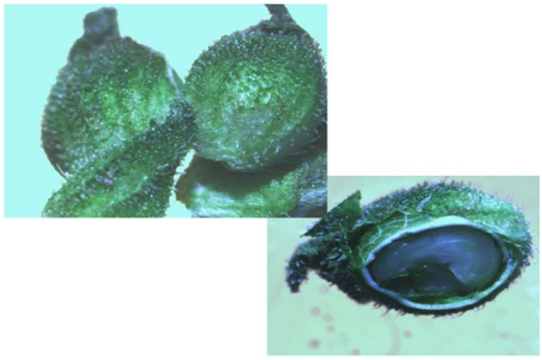
מנתוני הרכב הקנבינואידים באזורי הגידול ניתן לראות שתנאי הגידול באזורים השונים משפיעים על הרכב הקנבינואידים בצמח. הקנבינואיד המבוקש בצמחי האמפ הוא CBD, ויש חשיבות גם לתכולת הקנבינואיד בעל ההשפעה הפסיכו-אקטיבית ה THC .
נמצא כי רמת ה-CBD משתנה בין אזורי הגידול ולאורך תקופת הגידול. נמצא כי בערבה עקב תנאי העקה היבול היה נמוך מאוד וכן כמעט שלא נוצרו קנבינואידים ובכלל זה CBD. בלכיש התקבלו רמות CBDA גבוהות יחסית של כ-3% בהשוואה לכ-0.01% בערבה ו-0.2%-1.6% בגולן. בבחינת עיתוי איסוף תפרחות, ברמת הגולן, לאחר 7 שבועות מזריעה, נראתה תכולת ה-CBDA הגבוהה ביותר, 1.6%. כמו כן ברמת הגולן התקבלה כמות גבוהה יחסית של קרוב ל-0.5% THC בצמחים בתחילת הגידול.

פיתוח מערכת שתאפשר ביקורת על שדות האמפ למניעת גידול קנביס לצרכי סם - שיטות האיפיון שפיתחנו במסגרת שנת העבודה הראשונה של סמנים לקנבינואידים באמצעות PCR ואנליזת הרכב קנבינואידים באמצעות HPLC תאפשר בחינה לצרכי ביקורת בשדות ההאמפ. בשלב ראשון יש לבחון את השדה ולזהות בו צמחים חריגים מבחינת מורפולוגית. צמחים אלו ישמשו לבדיקה בשתי המערכות הביוכימיות שברשותנו.יחד עם צמחי ביקורת שהם אלה שמראים את המופע המורפולוגי הרגיל של זני ההאמפ. ניתן להפעיל את הבדיקות הנ״ל על עלים ופרחים כאחד. בשתי מערכות אלו ניתן לקבל תוצאות מדויקות ומהירות.

בשלב זה מדובר בשנת מחקר ראשונה וראשונית בלבד. בהמשך המחקר נשאף להביא זנים נוספים לבחינה, בעלי חומר גנטי מותאם יותר למטרות הגידול, בעל נוף גדול יותר ויכולת לייצר ביומסה רבה ובהתאם כמות זרעים רבה יותר. כמו כן יש לבחון את תכולת הקנבינואידים (THC, CBD) בצמח במספר שלבים במהלך הגידול וההפרחה , שלב זה הינו ראשוני בלבד ויש להשלים את שלבי המחקר המתוכננים כך שניתן יהיה להעריך על בסיס התוצאות הרב שנתיות את התכנות הגידול כגידול בסל גידולי התעשיה בחקלאות ישראל (אגרונומית וכלכלית).

תמונה 6 : מראה צמחי הזן 108 כשלושה שבועות מזריעה (12/4/18), מו"פ אבני איתן.
החלקות הריקות (ללא הצמחים) נזרעו בזן 109 שנבט באחוזים בודדים בלבד.

תמונה 7 : מראה הצמחים כשבועיים מזריעה, מו"פ ערבה תיכונה (10/4/18)



תמונה 8 : חתך בזרע וניתן לראות את העובר, במעטפת הזרע החיצונית יש טריכומות המייצרות קאנבנואידים, מו"פ ערבה תיכונה (1/5/18)

תמונה 9 : זרעים לאחר הפקה ודיש ואברי תפרחת ועלים למיצוי קנבנואידים, מו"פ ערבה תיכונה.

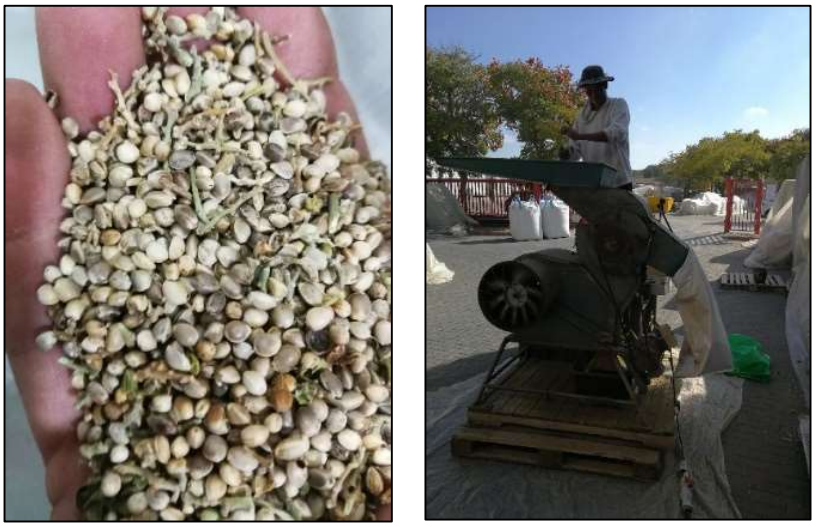
תמונה

10 :

צמחים זכריים ונקביים 28 יום מנביטה, מו"פ לכיש (18/6/18)

תמונה 11 : הגידול 56 יום מנביטה. למטה- זרעי ההאמפ על צמח ניקבי. משמאל- צמחי הזן 109 בודדים שנבטו מתנשאים מעל שני מטר בגובה, מו"פ לכיש (16/7/18)

תמונה 12: קציר 70 יום מנביטה ו-75 יום מזריעה, מו"פ לכיש (30/7/18)



תמונה 13: מימין- דייש ממוכן. משמאל- התוצר הסופי לאחר הניפוי.

הבעת תודה

תודה לקרן המדען הראשי של משרד החקלאות על מימון תכנית מחקר מספר 34-07-0003-18

רשימת ספרות

1. Teh, S.-S. and J. Birch, *Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed hemp, flax and canola seed oils.* Journal of Food Composition and Analysis, 2013. **30**(1): p. 26-31.
2. Montserrat-de la Paz, S., et al., *Hemp (Cannabis sativa L.) seed oil: analytical and phytochemical characterization of the unsaponifiable fraction.* Journal of agricultural and food chemistry, 2014. **62**(5): p. 1105-1110.
3. Tietel, Z., et al., *Irrigation-induced salinity affects olive oil quality and health-promoting properties.* Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018.
4. Anwar, F., S. Latif, and M. Ashraf, *Analytical characterization of hemp (Cannabis sativa) seed oil from different agro-ecological zones of Pakistan.* Journal of the American Oil Chemists' Society, 2006. **83**(4): p. 323-329.
5. Oomah, B.D., et al., *Characteristics of hemp (Cannabis sativa L.) seed oil.* Food chemistry, 2002. **76**(1): p. 33-43.