



ПРОГРАМА ЗА ПОДДРШКА НА МЛАДИ ЕКОЛОЗИ

„Д-Р ЉУПЧО МЕЛОВСКИ“ 2021

- ЗАВРШЕН ИЗВЕШТАЈ ЗА МАЛ ГРАНТ -

РАЗОТКРИВАЊЕ НА ДИВОРАСТЕЧКИ КАНАБИС НА ТЕРИТОРИЈАТА НА МАКЕДОНИЈА

Раководител: Јована Ѓорѓиевска

Извештај за периодот: 07.5.2022-15.12.2022

Датум на поднесување: 15.12.2022



1. Резиме(на Македонски и Англиски).

Диворастечки канабис е забележан на многу места во Македонија, но не се знае дали е автохтон, и не е морфолошки, фитохемиски и молекуларно истражуван и не е комерцијално валоризиран. Во текот на истражувањето во 2022 год реализирани се теренските активности на и во 3 региони се пронајдени и идентификувани примероци на диворастечки канабис,(Пелагониски регион , Струмица/Гевгелија и Кочани/Пробиштип/Штип) . Направена е фото-документација, собран е растителен материјал, хербаризирани се примероци, направена е морфолошка и фитохемиска карактеризација. Морфолошката карактеризација укажува на тоа дека сите собрани примероци најверојатно припаѓаат на истиот фенотип. Добиените резултати од фитохемиската карактеризација за вкупната содржина на CBD која варира од 0,41 – 1,83% m/m, додека вкупната содржина на THC варира од 0,02-0,12%.

Wild cannabis has been observed in many places in Macedonia, but it is not known if it is autochthonous, and it has not been morphologically, phytochemically and molecularly investigated and it has not been commercially valorized. During the research in 2022, field activities were carried out in 3 regions and samples of wild cannabis were found and identified (Pelagon region, Strumica/Gevgelija and Kočani/Probishtip/Shtip). Photo-documentation was made, plant material was collected, samples were herbarium, morphological and phytochemical characterization was made. Morphological characterization indicates that all collected samples likely belong to the same phenotype. Phytochemical characterization results obtained for total CBD content varying from 0.41 – 1.83% m/m, while total THC content varying from 0.02-0.12%.

1.1) Контекст / Context (до 50 збора)

Научниот интерес за канабисот (*Cannabis sativa* L.) експоненцијално расте поради откривањето на полезни фитохемиски компоненти, како и нивната терапевтска вредност. Освен за индустриска употреба поради неговите механични влакна, од голема важност е содржината на биокативни молекули – канабиноиди. Кај индустриските сорти, нивната содржина е многу ниска (THC 0,2%, CBD 1-5%) , за разлика од оние кои што се користат за медицински цели. Конопот порано бил култивиран како важно индустриско растение, но денес може да се сретне и како самоникнато растение на многу места во Македонија, и не се знае дали е автохтон, не е



морфолошки, фитохемиски и молекулаано истражуван и не е комерцијално валоризиран.

Scientific interest in cannabis (*Cannabis sativa* L.) is growing exponentially due to the discovery of useful phytochemical components, as well as their therapeutic value. Except for industrial use due to its mechanical fibers, the content of bioactive molecules - cannabinoids - is of great importance. In industrial varieties, their content is very low (THC 0.2%, CBD 1-5%), unlike those used for medicinal purposes. Hemp used to be cultivated as an important industrial plant, but today it can also be found as a wild plant in many places in Macedonia, and it is not known if it is autochthonous, it has not been morphologically, phytochemically and molecularly researched and it is not commercially valued.

1.2) *Цел на истражувањето /Aims and research questions (до 50 збора)*

-Дали постои диворастечки канабис – *Cannabis sativa* во Македонија и дали има комерцијална вредност?

- На кои локалитетите може да се најде диворастечки канабис во Македонија?
- Дали има детерминантни морфолошки разлики кај диворастечкиот канабис во Македонија споредено со другите видови?
- Дали има карактеристичен фитохемиски профил диворастечкиот канабис во МКД?

- Is there wild cannabis - *Cannabis sativa* in Macedonia and does it have commercial value?

- In which localities can wild cannabis be found in Macedonia?
- Are there any determining morphological differences in wild cannabis in Macedonia compared to other species?
- Does wild cannabis in MKD have a characteristic phytochemical profile?

1.3) *Методологија / Methodology (до 50 збора)*

Теренско снимање/истражување, мапирање, хербаризирање, макроскопска и микроскопска морфолошка карактеризација согласно UPOV дескриптори ^[1] за канабис и монографиите според Европска фармакопеја, фитохемиска карактеризација со екстракција и HPLC анализа според монографијата за сув цвет од канабис според Германска фармакопеја ^[2].



Field recording/research, mapping, herbarium, macroscopic and microscopic morphological characterization according to UPOV descriptors for cannabis and monographs according to European Pharmacopoeia, phytochemical characterization by extraction and HPLC analysis according to the monograph for dried cannabis flower according to German Pharmacopoeia.

1.4) *Најзначајни резултати / Results (до 100 збора)*

Струмица/Гевгелија, Кочани/ Пробиштип / Штип и Пелагониски се регионите каде што се пронајдени примероци на диворастечки канабис. Најдените ДК се фото-документани и хербаризирани, од морфолошката анализа главна видлива карактеристика им е висината (2,5 - 3,5 m) според која многу повеќе наликуваат на индустриски коноп, отколку на култивирани комерцијални видови што имаат помала височина, разгранетост и бујност на листовите. Морфолошката карактеризација укажува на тоа дека сите собрани примероци најверојатно припаѓаат на истиот фенотип. Заедно со фитохемиска карактеризација (определена е содржина на најзначајни канабиноиди 0.02-0.12% THC, 0.41-1.83 %CBD) наведува дека сите припаѓаат на фенотип/гено/хемотип.

Strumica/Gevgelija, Kočani/Probishtip/Štip and Pelagoniski are the regions where samples of wild cannabis were found. The found WCs have been photo-documented and herbarized, from the morphological analysis the main visible characteristic is their height (2.5 - 3.5 m) according to which they are much more like industrial hemp than cultivated commercial species that have a lower height, branching and lushness on the leaves. Morphological characterization indicates that all collected samples likely belong to the same phenotype. Together with phytochemical characterization (determined e content of the most significant cannabinoids 0.02-0.12% THC, 0.41-1.83% CBD) states that all belong to a phenotype/geno/hemotype.

1.5) *Научен придонес / Contribution to science (до 50 збора)*

Добиени се податоци за постоењето на диворастечкиот канабис, за неговата хорологија на територијата на Македонија, анализи на неговите морфолошки специфичности, фитохемски профил и неговата употребна вредност. Со објавување на овие резултати ќе се документира постоењето на диворастечкиот канабис на територијата на Македонија



Data were obtained on the existence of wild cannabis, its horology on the territory of Macedonia, analyzes of its morphological specificities, phytochemical profile and its use value. By publishing these results, the existence of wild cannabis on the territory of Macedonia will be documented.

- 1.6) *Придонес кон зачувување и заштита / Conservation importance (до 50 збора)*
 Добиените резултати ќе бидат соодветно дисеминирани и ќе придонесат кон валоризација на ова растение и развивање на свесноста за постоење на автохтон канабис во Македонија, за неговото значење и како да се промени практиката од негово интенцијално уништување кон негово зачувување.

The obtained results will be properly disseminated and will contribute to the valorization of this plant and the development of awareness of the existence of autochthonous cannabis in Macedonia, of its importance and how to change the practice from its intentional destruction to its preservation.

2. Опишете ги планираните активности една по една и прогресот кој резултирал од истите.

Напредок низ бројки (%)	Иницијално планирани активности	Постигнат напредок (реализирани активности)	Очекувани резултати	Постигнати резултати
1. Теренски активности (100 %)	1.1 Идентификација на локалитети	Посетени се сите потенцијални локалитети: -Пелагониски регион, -Струга/Охрид, -Струмица/Гевгелија, -Кочани/Пробиштип /Штип, -Куманово/Крива Паланка	1.1 да бидат пронајдени сите локалитети на ДК во Македонија	Пронајден е ДК во локалитетите: -Пелагониски регион, -Струмица/Гевгелија -Кочани/Пробиштип/Штип
	1.2 Собирање на растителен материјал	Собран е растителен материјал	1.2 собрани примероци од ДК во вистинска физиолошка фаза (во време на цветање, пред формирање на семе) и во доволна	Собран е растителен материјал по 15 примероци од секој локалитет

			количина	
	1.3 Фотодокументација и првична макроскопска карактеризација	Направена фотодокументација и првична макроскопска карактеризација	1.3 изработена фотодокументација од сите локалитети и примероци на ДК и направена првична теренска карактеризација (пополнет дел од дескриптор)	Направена фотодокументација и првична макроскопска карактеризација која укажува на целосна фенотипска сличност
	1.4 Хербаризирање	Хербаризирани се примероци од ДК	1.4 изработени хербариуми од сите собрани примероци на ДК	Хербаризирани се по три примероци од ДК од секој локалитет
Методологија 1	Теренско снимање/истражување, мапирање, хербаризирање			
2. Лабораториски активности(100 %)	2.1 Макроскопска и микроскопска морфолошка карактеризација	Направена е макроскопска и микроскопска морфолошка карактеризација	2.1 направена макроскопска и микроскопска морфолошка карактеризација и добиени сознанија за посебноста на ДК примероци	Направена е фотодокументација а од механички жлездести трихоми што го укажуваат постоењето на канабианоиди. Од дескрипторите (Д), направени се: Пет дескриптори за листови од кои: (Д6) Должина на петиола- 5,59 mm, (Д7) Обојување на петиола- слабо, (Д8) Број на ливчиња - неколку (помалку од 7), (Д9) Должина на централно ливче-51,32 mm, (Д10) Ширина на централно ливче -2,48 mm. Четири дескриптори за главно стебло: (Д19) Должина на интернод - 139,9 mm, (Д20) Дебелина на стебло - 9,47 mm, (Д21) длабочина на ребра

				-плитки, (Д22) Срцевина (празнина) на напречен пресек на стебло -средна. Три дескриптори за семе: (Д23) Маса на 1.000 семиња- 0,0084415 g, (Д24) Обојување- сиво кафено, (Д25) Црна мозаична шема на семето-силна
Методологија 2.1	Макроскопска и микроскопска морфолошка карактеризација согласно UPOV дескриптори за канабис и монографиите според Европска фармакопеја			
	2.2 Фитохемиска карактеризација	Направена е фитохемиска карактеризација	2.2 осознаен фитохемиски- канабноиден профил на ДК примероците	Добиени се резултати за вкупната содржина на СВД (0,41% - 1,83% m/m), и вкупната содржина на ТНС (0,02%-0,12% m/m). Највисоката содржина на СВДА беше 2%, а најниската 0,36%.
Методологија 2.2	фитохемиска карактеризација со екстракција и HPLC анализа според монографијата за сув цвет од канабис според Германска фармакопеја.			
3. Обработка на резултати, десеминација и подигнување на јавната свест (66%)	3.1 изготвување на финален извештај	резултатите од морфолошка и фитохемиска анализа се обработени и изготвен е финален извештај	3.1 изготвен финален извештај	Резултатите од морфолошка и фитохемиска анализа се обработени и изготвен е финален извештај;сеуште се работи на подигнување на јавната свест
	3.2 презентација на резултатите преку дигитални медиуми, и учество на конференции/ко нг्रेसи	Направена е презентација за досегашните резултати на престојниот Фармацевтски конгрес	3.2 презентирани резултати преку дигитални медиуми, и учество на конференции/конгре си	Направена е презентација за досегашните резултати на 7ми Фармацевтски конгрес - 5-9.10.2022 Охрид

	3.3 кампања преку дигитални медиуми за подгнување на јавната свест за постоењето на ДК	Во тек	3.3 успешна кампања преку дигитални медиуми за подгнување на јавната свест за постоењето на ДК	Во тек
Методологија 3	Припрема и презентирање на постер презентација			

3. Детален опис на резултатите

Цел

ХИПОТЕЗА

-Дали постои диворастечки канабис – *Cannabis sativa* во Македонија и дали има комерцијална вредност?

Во Македонија постои ДК и има комерцијална вредност поради неговиот фитохемиски потенцијал и прилагоденост на раст во надворешни услови.

- Цел 1
Разоткривање на локалитети со диворастечки канабис во Македонија? (1.1)
Идентификувани се сите планирани локалитетите: Пелагониски регион, Струга/Охрид, Струмица/Гевгелија, Кочани /Пробиштип/Штип, Куманово/Крива Паланка. Пронајден е ДК на локалитетите Пелагониски регион, Струмица/Гевгелија, Кочани/Пробиштип/ Штип.
- Цел 2
Утврдување на детерминантни морфолошки разлики кај диворастечкиот канабис во Македонија споредено со другите видови.
Направена е макроскопска морфолошка карактеризација согласно UPOV дескриптори за канабис (2.1).
Една од главните морфолошки карактеристики е височината и хабитусот на единките, имено главна видлива карактеристика им



е висината (2,5 - 3,5 m) и многу повеќе наликуваат на индустриски коноп, отколку на култивирани комерцијални видови што имаат помала височина, разгранетост и бујност на листовите. Морфолошката карактеризација укажува на тоа дека сите собрани примероци најверојатно припаѓаат на истиот фенотип. На европската сортна листа официјална има повеќе од 75 различни регистрирани сорти на канабис [3]. Анализата и споредбата на морфолошките карактеристики на ДК примероците со дстапните податоци од УПОВ дескрипторите на сите регистрирани сорти на канабис од официјалната европска сорта листа изискуваат сериозна статистичка анализа. За ова воедно се потребни податоци од поголем број на примероци од ДК како и од повеќе сезони, за да резултатите би биле релевантни. Од друга страна неопходни се молекуларни маркери за да се определат посебоста на ДК примероците.

- Цел 3

Утврдување на карактеристичниот фитохемиски профил диворастечкиот канабис во МКД со фитохемиски испитување на херба без стебло од канабис со HPLC метода (DAB-Германска фармакопеја) (2.2). Највисоката содржина на CBDA беше 2%, а најниската 0,36%. Класификацијата на хемотипови на *C. sativa* се базира на содржината и соодносот на Δ^9 -THC и CBD, генерално постојат 3 хемотипа, -THC-предоминантен тип (CBD/ Δ^9 -THC=0.00-0.005) т.н марихуана, CBD предоминантен тип (CBD/ Δ^9 -THC=15.0-25.0) т.н коноп и интермедијарен тип (CBD/ Δ^9 -THC=0.5-3.0) [40]. Може да се јави голема варијабилност внатре во хемотиповите што зависи од генетиката на семето/сортата и условите каде раснат растенијата^[4,5]. Сите испитувани примероци припаѓаат на CBD предоминантен тип.

4. Кои беа главните предизвици и како ги надминавте?

Овде наведете ги и промените кои настанале заради одредени предизвици и објаснете зошто биле неопходни. Кои се научените лекции кои

Главен предизвик при реализација на овој проект беше задоцнетата вегетација поради која планираните теренски активности го започнавме два месец подоцна од планираното, но од втората половина на месец јули веќе ги идентификувавме локалитетите и собравме примероци од ДК во вистинска физиолошка фаза потребна за понатамошна карактеризација. Исто така успеавме пронајдените видови на ДК да ги следиме до септември.



Со самото тоа лабораториските активности ги започнавме во септември, еден месец подоцна од планираното, но секако успеавме да ги завршиме.

5. Забелешки околу финансискиот менаџмент.

Овде може да ги опишете и значајните промени, временските недоследности и зошто биле неопходни. Доколку сте испратиле барања кои ви биле одобрени, наведете ги тука.

Со завршување на теренските активности потрошени се предвидените средства за теренски активности, исплатените од МЕД, а останатите од сопствени извори. Непредвидената промена на цената на горивото беше предизвик во поглед на финансискиот план, затоа 6530 денари од ставка храна се префлени во патни трошоци. Исто така 216 денари од вкупната сума на грантот се не искористени.

6. Користена литература

1. International Union for the protection of the new varieties of plants Geneva (UPOV) (2012).
2. Cannabisblüten. In: German Pharmacopoeia. 2020th ed. Bonn: Geschäftsstelle der ArzneibuchKommissionen, Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte; 2020.In.
3. Barbara Farinon 1, *, Romina Molinari 1, Lara Costantini 1 and Nicolò Merendino 1; The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional Quality and Potential Functionality for Human Health and Nutrition, DOI:10.3390/nu12071935, 29 June 2020
4. Veronika Stoilkovska Gjorgievska, Ivana Cvetkovikj Karanfilova, Ana Trajkovska, Marija Karapandzova, Biljana Bauer Petrovska, Svetlana Kulevanova, Gjose Stefkov; Monitoring of Cannabis Cultivar Technological Maturity by Trichome Morphology Analysis and HPLC Phytocannabinoid Content. Pharmacognosy Research, 2023;



5. Stefkov, G. et al, Analytical Techniques for Phytocannabinoid Profiling of Cannabis and Cannabis-Based Products – A Comprehensive Review. *Molecules* 2022