



# Análise comparativa de tratamentos no enraizamento de clones de *Cannabis sativa* L.

Dissertação

Curso de Mestrado em Agricultura Sustentável

JOÃO FERNANDO HENRIQUES MARMELO

Orientadores: Ana Cordeiro; Patrick Materatski

Elvas, 2026



JOÃO FERNANDO HENRIQUES MARMELO

Análise comparativa de tratamentos no enraizamento de clones  
de *Cannabis sativa* L.

Dissertação apresentada para obtenção do grau de mestre em  
(AGRICULTURA SUSTENTÁVEL) conferido pelo Instituto Politécnico de  
Portalegre.

Orientador: Ana Isabel Rodrigues Cordeiro

Arguente principal: Ana Cláudia Pereira da Silva

Arguente: José António Vaz Caraças Telo da Gama

Presidente do Júri: José Manuel Rato Nunes

Classificação: 13 valores

Escola Superior de Biociências de Elvas

2026

# Agradecimentos

Venho por este meio agradecer a todas as pessoas que foram fundamentais ao longo do meu percurso na Escola Superior de Biociências de Elvas, bem como na realização e na elaboração da presente dissertação.

Gostaria de agradecer à Orientadora Interna, a professora Ana Cordeiro que se mostrou com total disponibilidade desde o primeiro dia em que fiz o convite, e ao longo de toda a elaboração no esclarecimento de dúvidas bem como através de sugestões de modo a conseguir retirar o melhor proveito do ensaio bem como da escrita do presente documento;

Ao Orientador Externo, Patrick Materatski, que sempre se mostrou pronto para me ajudar em qualquer dia e hora que foi necessário, principalmente no tratamento dos resultados;

À empresa Herdade das Barrocas que mostrou total disponibilidade para que fosse realizado o ensaio nas suas instalações, e se mostrou disponível para o que fosse necessário;

A todos os professores por todos os conhecimentos transmitidos, e pela disponibilidade que sempre foi demonstrada para o que foi necessário;

A todos os funcionários que foram também muito importantes na resolução de situações relativas à instituição;

Aos meus pais, e à minha irmã, pois sempre me incentivaram a continuar a estudar e me apoiaram ao longo de todo o percurso;

Ao meu filho Martim e à minha namorada Sara Soares, pela grande ajuda que me deu, e pela paciência que tiveram para que eu conseguisse cumprir este objetivo;

À minha colega Andreia Saragoça pela sua ajuda no delineamento da tese e aos meus colegas de trabalho, em especial ao Tomás Ribeiro e à Laura Prezado pela ajuda principalmente na recolha de dados ao longo do ensaio.

A todos muito obrigado!

# Resumo

A *Cannabis sativa* L. tem vindo a ganhar destaque para fins medicinais e terapêuticos em termos globais, e no nosso país é uma cultura que se encontra em expansão. Com a necessidade de gerar novas plantas a partir do processo de macro propagação foi decidido escolher uma variedade com baixa taxa de enraizamento e assim através de uma análise comparativa, utilizando 8 tratamentos, procurou-se verificar qual o tratamento com melhor taxa de enraizamento. Estes 8 tratamentos englobaram três pressupostos diferentes: o tamanho do clone, a intensidade de luz a partir do quinto dia de enraizamento e o Ec (condutividade elétrica) utilizado na fertirrega. Ao longo do ensaio foi realizada a propagação dos trinta e três clones em cada um dos oito tratamentos no respetivo tabuleiro de substrato e foram retiradas medições de cada clone em dois momentos distintos, bem como observado o aparecimento de novas folhas. A contagem do número de raízes observadas realizou-se em três dias distintos de modo a obter um resultado mais concreto. Estes oito tratamentos foram feitos com três repetições de modo a obter um resultado o mais fiável possível colocando os tratamentos de forma aleatória no interior da sala, e após a recolha de todos estes dados fazer a sua análise e obter uma conclusão. Após analisar os resultados e retirar as conclusões de todos os tratamentos em comparação com o nosso testemunho, neste caso o tratamento 6, é possível definir qual ou quais os pressupostos que tem influência no enraizamento dos clones bem como no seu desenvolvimento.

**Palavras-chave:** *Cannabis sativa* L.; Macropropagação; Substrato; Variedade; Tratamentos; Pressupostos; Enraizamento.

# Abstract

*Cannabis sativa* L. has been gaining prominence for medicinal and therapeutic purposes globally, and in our country, it is a crop that is expanding. With the need to generate new plants from the macro propagation process, it was decided to choose a variety that is difficult to root and thus, through a comparative analysis using eight treatments, the aim was to determine which treatment had the highest rooting rate. These eight treatments encompass three different assumptions: the size of the clone, the light intensity from the fifth day onwards, and the  $E_c$  (electric conductivity) used in fertigation. Throughout the trial, the thirty-three clones were propagated in each of the eight treatments in the respective substrate tray, and measurements were taken of each clone at two different times, as well as observing the appearance of new leaves. The number of roots observed were counted on three different days in order to obtain a more concrete result. These eight treatments were performed with three repetitions in order to obtain the most reliable result possible, placing the treatments randomly inside the room. After collecting all this data, it was analyzed and a conclusion was reached. After analysing the results and drawing conclusions from all the treatments in comparison with our control, in this case treatment 6, it is possible to identify which factors influence the rooting of the cuttings as well as their development.

**Key words:** Assumptions; *Cannabis sativa* L; Macropropagation; Rooting; Substrate; Treatments; Variety.

# Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

CBDA - Ácido Canabidiólico

CBD - Canabidiol

CBG - Canabigerol

Cm – Centímetros

Ec - Condutividade Elétrica

GACP - *Good Agricultural and Collection Practices*

IBA – Ácido indol-3-butírico

LED – Díodo emissor de luz

mg – Miligramas

NAA – Ácido 1-naftilacético

PPFD – Densidade de fluxo de fótons fotossintéticos

SE – Erro padrão

THCA - Ácido Tetrahydrocannabinólico

THC - Tetrahydrocannabinol

% - Percentagem

°C – Graus Celsius

® - Marca Registada

# Índice Geral

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	ii
Abstract.....	iii
Abreviaturas, Siglas e Acrónimos .....	iv
Índice Geral .....	v
Índice de Quadros.....	vii
Índice de Figuras .....	viii
1. Introdução e Objetivos.....	1
1.1 Introdução .....	1
1.2. Objetivos.....	2
2. Revisão Bibliográfica .....	3
2.1. Propriedades Medicinais da <i>Cannabis sativa</i> L. ....	3
2.1.2. Aplicações terapêuticas da Cannabis.....	3
2.2. Morfologia e Fisiologia da Cannabis .....	4
2.3. Propagação Vegetativa e Clonagem na Produção de Cannabis Medicinal .....	5
2.3.1. Enraizamento de Clones: Processos e Desafios .....	6
2.3.2. Fatores que Influenciam o Enraizamento de Clones .....	6
2.4. Métodos de Enraizamento em Cannabis .....	7
3. Material e Métodos .....	9
3.1. Local de Estudo .....	9
3.2. Caracterização das Instalações de Propagação.....	9
3.3. Material Vegetal .....	10
3.4. Preparação dos Clones.....	11
3.5. Substrato Utilizado .....	12
3.6. Descrição dos Tratamentos.....	13
3.6.1 Tratamento 1 .....	13
3.6.2 Tratamento 2.....	14
3.6.3 Tratamento 3.....	14
3.6.4 Tratamento 4.....	15
3.6.5 Tratamento 5.....	15
3.6.6 Tratamento 6.....	16
3.6.7 Tratamento 7.....	17
3.6.8 Tratamento 8.....	17
3.7. Condições Ambientais Durante o Ensaio .....	18

3.8. Avaliações e Parâmetros Medidos.....	19
3.9. Tratamento Estatístico dos Dados .....	19
3.10. Cronograma Experimental.....	20
4. Resultados.....	21
5. Discussão .....	26
6. Conclusões.....	29
7. Bibliografia.....	31

# Índice de Quadros

Quadro 1 Percentagem do número de clones com formação de folhas após 15 e 18 dias em cada um dos tratamentos (1 – 8).....	21
Quadro 2 Percentagem do número de clones com formação de raízes após 12, 15 e 18 dias em cada um dos tratamentos (1 – 8).....	21
Quadro 3 Detalhes do teste PERMANOVA de 1 fator “Tratamento” (1 nível, fixo), para a variável número de raízes após 18 dias de ensaio. Os valores a negrito destacam efeitos e interações significativas ( $p < 0,05$ ).....	23
Quadro 4 Detalhes do teste PERMANOVA de 1 fator “Tratamento” (1 nível, fixo), para a variável crescimento do caule após 12 dias de ensaio. Os valores a negrito destacam efeitos e interações significativas ( $p < 0,05$ ). .....	24

# Índice de Figuras

Figura 1 Morfologia da <i>Cannabis sativa</i> L. (Fordjour, 2023).....	5
Figura 2 Estante na sala de propagação para acondicionar e aclimatar os clones.....	10
Figura 3 Planta-mãe HB155 .....	10
Figura 4 Bancada de vidro para corte das estacas a 7,5 cm ou 10 cm .....	11
Figura 5 Rhizopon AA 0,5 %, regulador de crescimento vegetal á base de auxinas, utilizado para promover o enraizamento de estacas.....	12
Figura 6 Tabuleiro de substrato .....	12
Figura 7 Tratamento 1 .....	14
Figura 8 Tratamento 2.....	14
Figura 9 Tratamento 3.....	15
Figura 10 Tratamento 4.....	15
Figura 11 Tratamento 5.....	16
Figura 12 Tratamento 6.....	16
Figura 13 Tratamento 7.....	17
Figura 14 Tratamento 8.....	17
Figura 15 Tabuleiro com campânula.....	18
Figura 16 Média $\pm$ erro padrão (SE) do número de raízes após 12, 15 e 18 dias de ensaio em cada um dos tratamentos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8).....	22
Figura 17 Média $\pm$ erro padrão (SE) do crescimento do caule após 12 dias de ensaio em cada um dos tratamentos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8).....	24

# I. Introdução e Objetivos

## I.1 Introdução

Nos dias de hoje é bastante comum fazer-se referência à cannabis medicinal e associar-se esta planta ao seu potencial médico. No entanto, nem sempre foi assim. A cannabis foi descoberta na China, há cerca de 12000 anos e era recorrentemente plantada pelas suas características psicoativas. Com o passar dos séculos esta planta começou a ser usada por pessoas em todo o mundo, tanto pelas suas características psicoativas, como pelas suas características medicinais (Crocq, 2020). Atualmente, a cannabis é bastante utilizada em tratamentos para diferentes tipos de doença (Hoch, *et al*, 2024).

À medida que a ciência foi evoluindo, também o conhecimento sobre as particularidades medicinais desta planta foi progredindo. Sabe-se, atualmente, que o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) e o canabidiol (CBD) tem várias propriedades farmacológicas já comprovadas, contudo, estas propriedades não são encontradas em grandes quantidades na planta cannabis (Ioannidis *et al*, 2020).

Devido a este fato, a procura por variedades de plantas de cannabis que apresentam características como valores elevados de THC e CBD têm decorrido a um ritmo acelerado, culminado na descoberta de variedades de cannabis com concentrações substanciais de THC e CBD (Ioannidis *et al*, 2020). Conforme estes estudos foram sendo realizados, a descoberta destas variedades de cannabis com as concentrações procuradas começaram a ser utilizadas na forma de clones. Este método de propagação destacou a importância do enraizamento da planta, e, conseqüentemente o tempo de desenvolvimento das primeiras folhas. O tipo de substratos usados para o enraizamento também tem vindo a ganhar popularidade, uma vez que se verificou a ligação entre o tipo de substrato e o crescimento saudável da planta (Ioannidis *et al*, 2020).

Neste contexto, também é importante salientar a relevância da escolha de variáveis como a condutividade elétrica da solução de hidratação, a intensidade luminosa, e o tamanho inicial dos clones no efeito direto em processos fisiológicos que influenciam o enraizamento, o número de folhas e o desenvolvimento inicial das plantas. Por isso, um estudo detalhado destes parâmetros permite compreender de que forma estes fatores

contribuem para o sucesso da propagação vegetativa, possibilitando a otimização de protocolos e a obtenção de resultados mais consistentes e eficientes.

## 1.2. Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar e comparar o desempenho de oito tratamentos distintos no enraizamento de clones da cultivar HB155, variedade que apresenta boas concentrações de THC e CBD embora com baixas taxas de enraizamento e resultados heterogêneos. Em particular, pretendeu-se:

1. Avaliar o efeito do tamanho inicial dos clones (7,5 cm versus 10,0 cm) no processo de enraizamento.
2. Analisar a influência da condutividade elétrica (1,5 versus 2,5 mS/cm) da solução de hidratação inicial.
3. Estudar o impacto da intensidade luminosa aplicada a partir do quinto dia (80,68 densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) versus 124,80 PPFD).
4. Quantificar o número de raízes, o desenvolvimento foliar e o crescimento em altura sob cada tratamento.
5. Identificar qual ou quais tratamentos promovem maior sucesso de enraizamento, comparativamente ao protocolo testemunho (tratamento 6).
6. Propor recomendações técnicas visando melhorar a eficiência da propagação da cultivar HB155.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Propriedades Medicinais da *Cannabis sativa* L.

A *Cannabis sativa* L. é uma espécie de reconhecida complexidade fitoquímica, contendo mais de 480 compostos identificados, entre os quais se destacam canabinoides, terpenos e compostos fenólicos (Bitežnik *et al*, 2024). Os canabinoides constituem o grupo mais estudado devido às suas propriedades terapêuticas, moduladas principalmente por dois recetores do sistema endocanabinoide: CBI, localizado preferencialmente no sistema nervoso central; e CB2, predominante no sistema imunitário (Brinch-Pederson, 2023). Entre os canabinoides majoritários, o THC e o CBD são os mais relevantes sob o ponto de vista farmacológico. Ambos derivam das formas ácidas ácido tetrahydrocannabinólico (THCA) e ácido canabidiólico (CBDA), respetivamente, e apresentam mecanismos de ação distintos. O THC liga-se de forma preferencial ao recetor CBI, exercendo efeitos psicoativos, analgésicos, antiespásticos e antieméticos. Já o CBD atua de forma mais ampla em diversos sistemas fisiológicos, sendo reconhecido pelas suas propriedades ansiolíticas, anti-inflamatórias, anticonvulsivantes e antipsicóticas (Wróbel *et al*, 2018). A identificação e classificação dos perfis químicos de *Cannabis* levou à definição de quatro quimiotipos baseados nas proporções entre THC, CBD e canabigerol (CBG):

- Quimiotipo I – elevado teor de THC e baixo de CBD;
- Quimiotipo II – teores equivalentes de THC e CBD;
- Quimiotipo III – elevado teor de CBD e baixo de THC;
- Quimiotipo IV – elevado teor de CBG (Bitežnik *et al*, 2024).

O desenvolvimento de cultivares com perfis químicos estáveis é essencial para a indústria medicinal, justificando o papel determinante dos métodos de propagação vegetativa.

#### 2.1.2. Aplicações terapêuticas da *Cannabis*

A aprovação do uso medicinal da *Cannabis sativa* L. em diversos países impulsionou a investigação científica e a produção de derivados vegetais standardizados. Entre as indicações clínicas com maior suporte científico encontram-se:

- tratamento de espasticidade na esclerose múltipla;
- alívio de náuseas e vômitos induzidos por quimioterapia;
- analgesia em dor neuropática;
- melhoria do apetite em doenças crônicas;
- controlo de convulsões refratárias;
- atenuação de sintomas ansiosos e perturbações do sono (Boonsongcheep, P *et al*, 2020).

Do ponto de vista farmacêutico, destacam-se os medicamentos Sativex® e Epidiolex®, desenvolvidos a partir de extratos padronizados de Cannabis, os quais reforçam a necessidade de plantas geneticamente estáveis e quimicamente consistentes (Wróbel, T *et al*, 2018).

## 2.2. Morfologia e Fisiologia da Cannabis

A planta apresenta elevada plasticidade fenotípica e uma morfologia que influencia diretamente a sua capacidade fotossintética (Figura 1), produtividade e qualidade dos compostos bioativos (Hesami *et al*, 2023). Entre os elementos mais relevantes destacam-se:

### a) Folhas

As folhas representam os principais órgãos fotossintéticos e são determinantes na eficiência energética da planta. Alterações no tamanho, número ou integridade foliar influenciam o vigor vegetativo e, conseqüentemente, a qualidade dos clones produzidos (Hesami *et al*, 2023).

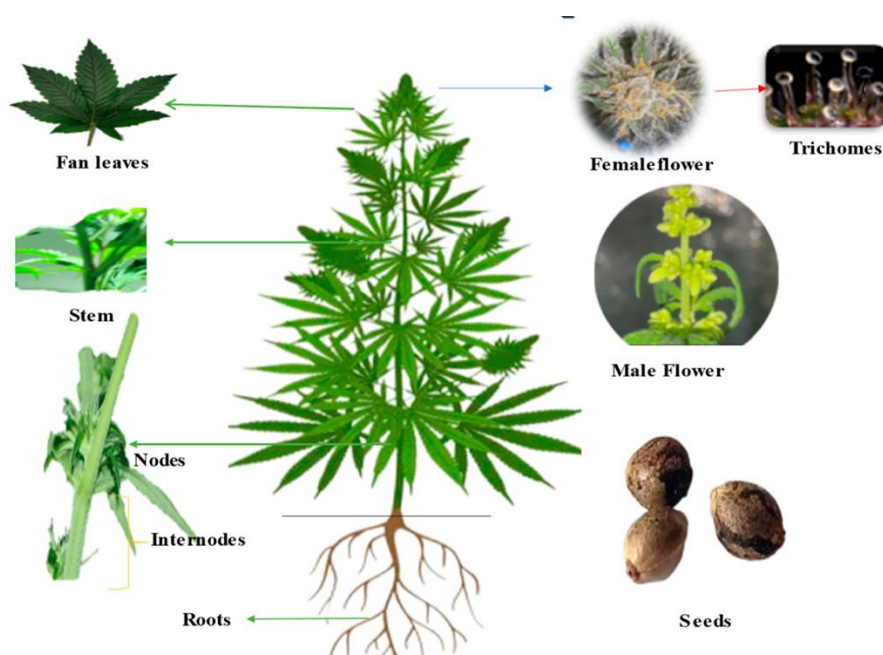
### b) Estrutura da planta

As características da estrutura vegetal como a altura, padrão de ramificação e distância intermodal determinam a exposição à luz, a circulação de ar e a distribuição de metabolitos. Diferentes cultivares apresentam padrões estruturais específicos, decorrentes da sua origem genética e do tipo de seleção a que foram submetidas (Hesami *et al*, 2023).

### c) Tricomas glandulares

Os tricomas são estruturas especializadas responsáveis pela biossíntese e acumulação de canabinoides, terpenos e flavonoides. A sua densidade, maturação e integridade

determinam grande parte da qualidade medicinal da planta (Hesami *et al*, 2023). Assim, a capacidade da planta clonada em desenvolver tricomas de forma homogênea depende da eficiência do processo de propagação e da saúde das plantas-mãe.



**FIGURA I MORFOLOGIA DA CANNABIS SATIVA L. (FORDJOUR, 2023).**

### 2.3. Propagação Vegetativa e Clonagem na Produção de Cannabis Medicinal

A clonagem constitui a principal via de propagação em sistemas de produção medicinal, permitindo a obtenção de indivíduos geneticamente idênticos à planta-mãe. Este método mantém constante o perfil fitoquímico e reduz a variabilidade observada nas plantas provenientes de semente, frequentemente associada à recombinação genética (Perrone, C *et al* 2022).

Além disso, cultivares com características particularmente desejáveis, nomeadamente teores elevados de CBD ou THC, perdem estabilidade ao longo de gerações obtidas por semente, reforçando a necessidade de técnicas de clonagem padronizadas, como a micropropagação, que é cada vez mais utilizada neste tipo de cultura. Não pela

dificuldade de certas cultivares em termos de multiplicação vegetativa, mas de forma a garantir a replicabilidade dos fatores genéticos.

### 2.3.1. Enraizamento de Clones: Processos e Desafios

Apesar da ampla utilização da clonagem em horticultura, os estudos dedicados ao enraizamento de *Cannabis sativa* ainda são limitados (Filho *et al*, 2024). As dificuldades relacionam-se com:

- Elevada variabilidade entre cultivares;
- Resposta diferenciada a fatores ambientais;
- Falta de protocolos amplamente validados;
- Sensibilidade ao stresse hídrico, luminoso e térmico;
- Dependência do estado fisiológico da planta-mãe (Filho *et al*, 2024).

A crescente regulamentação da produção medicinal tem impulsionado a investigação nesta área, permitindo desenvolver técnicas mais fiáveis de higienização, seleção de estacas, uso de substratos apropriados, aplicação de auxinas e controlo ambiental.

Estudos como os de Caplan *et al* (2018) demonstram que o número de folhas remanescentes no clone influencia a velocidade e qualidade do enraizamento, enquanto outros trabalhos referem a importância do tipo de corte, da higiene das ferramentas e da aplicação de tratamentos hormonais, como o ácido indol-3-butírico (IBA).

### 2.3.2. Fatores que Influenciam o Enraizamento de Clones

O enraizamento é um processo complexo regulado por fatores internos e externos. Entre os mais relevantes destacam-se:

- Substrato

Substratos bem arejados, como misturas de turfa e fibra de coco, favorecem o desenvolvimento radicular e reduzem o risco de asfixia (Nemati *et al* 2021).

- Fitorreguladores

Auxinas como IBA ou ácido I-naftilacético (NAA) são amplamente utilizadas para estimular a formação de raízes adventícias.

- Higienização e sanidade

A esterilidade do processo é fundamental para evitar infecções por fungos e bactérias, especialmente em ambientes de elevada humidade.

- Morfologia do clone

A quantidade e dimensão das folhas influenciam a taxa fotossintética e, portanto, o balanço energético disponível para formar novas raízes (Caplan *et al*, 2018).

- Ambiente de propagação

Temperatura, humidade relativa, intensidade luminosa e regime hídrico são determinantes.

- Tamanho da estaca e origem (apical ou basal)

Estacas apicais tendem a apresentar maior sucesso de enraizamento, embora tal dependa da cultivar.

- Nutrientes e condutividade elétrica

A aplicação de soluções nutritivas de baixa condutividade elétrica (Ec) durante o período inicial é recomendada, evitando que o clone seja exposto a stresse osmótico (Dilena, *et al* 2025).

## 2.4. Métodos de Enraizamento em Cannabis

Diversos métodos têm sido testados, incluindo:

- Uso de substratos orgânicos como turfa e fibra de coco;
- Cubos de lã de rocha;
- Sistemas de hidroponia em águas profundas;
- Tabuleiros de propagação com elevada retenção hídrica;

- Aplicação de géis de IBA e extratos naturais (como salgueiro ou aloé vera), frequentemente correlacionados com aumentos na velocidade de formação de raízes (Caplan *et al* 2019; Wise *et al* 2024).

A escolha do método depende da escala produtiva, das características da cultivar e da disponibilidade de equipamento técnico.

# 3. Material e Métodos

## 3.1. Local de Estudo

O ensaio foi conduzido nas instalações de propagação da empresa localizada na Herdade das Barrocas. A exploração opera sob regulamentação para produção de *Cannabis sativa* L. com fins exclusivamente medicinais, seguindo os princípios das *Good Agricultural and Collection Practices* (GACP).

As atividades decorreram entre 17 de outubro e 4 de novembro, período durante o qual foram monitorizadas todas as fases do processo: seleção das plantas-mãe, preparação dos clones, aplicação dos tratamentos, enraizamento, manutenção ambiental e recolha de dados.

## 3.2. Caracterização das Instalações de Propagação

A sala de propagação (Figura 2) onde decorreu o estudo é uma estrutura de ambiente controlado, equipada com sistemas de:

- Iluminação diódo emissor de luz (LED) de espectro otimizado para propagação;
- Controlo termo-higrométrico automatizado;
- Tabuleiros de propagação com células individuais;
- Sistemas de irrigação manual e de nebulização;
- Fluxo de ar regulado, garantindo ventilação adequada e renovação atmosférica constante.

A temperatura média mantida durante o ensaio variou entre 24 e 26 °C, com humidade relativa inicial dentro das campânulas entre 85% a 99%, reduzida gradualmente à medida que se intensificou a fase de enraizamento. Ficando o tabuleiro sem campânula, a humidade da sala varia entre 65-75%.



**FIGURA 2 ESTANTE NA SALA DE PROPAGAÇÃO PARA ACONDICIONAR E ACLIMATAR OS CLONES**

### 3.3. Material Vegetal

O material vegetal consistiu em estacas clonais obtidas de plantas-mãe da cultivar HB155 (Figura 3), geneticamente estáveis e mantidas em condições sanitárias rigorosas. As plantas-mãe, previamente higienizadas e podadas para fins de uniformização, apresentavam elevado vigor vegetativo, garantindo que as estacas fossem retiradas de tecidos jovens, fisiologicamente ativos e aptos à formação de raízes adventícias. As estacas utilizadas, foram retiradas de 12 plantas mãe todas elas com o mesmo fenótipo. Cada estaca foi colhida da extremidade apical, com orientação para cortes limpos, precisos e efetuados com lâminas esterilizadas entre plantas.



**FIGURA 3 PLANTA-MÃE HB155**

### 3.4. Preparação dos Clones

Após a colheita das estacas, procedeu-se a:

1. Remoção parcial das folhas basais com auxílio da tesoura evitando excesso de superfície transpiratória;
2. Imersão da zona basal em solução de hidratação, com pH a 5,9 e transferência das estacas para o laboratório de propagação;
3. Corte diagonal da base da estaca (Figura 4), ampliando a área disponível para formação de raízes adventícias, e de seguida o corte da ponta das folhas;
4. De modo a promover o enraizamento utilizou-se previamente à colocação dos clones em substrato o Rhizopon AA 0,5% (Figura 5) numa concentração de 10-25 mg / clone;
5. Inserção imediata no substrato previamente humedecido.



**FIGURA 4 BANCADA DE VIDRO PARA CORTE DAS ESTACAS A 7,5 CM OU 10,0 CM**



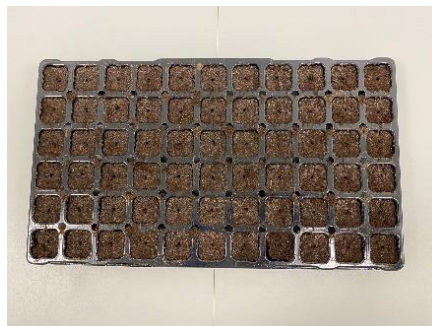
**FIGURA 5 RHIZOPON AA 0,5 %, REGULADOR DE CRESCIMENTO VEGETAL À BASE DE AUXINAS, UTILIZADO PARA PROMOVER O ENRAIZAMENTO DE ESTACAS**

### 3.5. Substrato Utilizado

O substrato utilizado (Figura 6) para o ensaio visou facilitar a indução radicular. Recorreu-se ao uso de diversos Jiffy®preforma. Os Jiffy®preforma são fornecidos em tabuleiros de 66 alvéolos, porém utilizaram-se 33 alvéolos por tratamento devido ao número elevado de tratamentos para a área de ensaio disponível.

- Turfa (30%), garantindo retenção hídrica adequada;
- fibra de coco (70%), responsável por arejamento e estrutura física;
- pH (entre 4,7 e 5,3) estabilizado e baixa condutividade elétrica.

As células de propagação apresentaram elevada capacidade de drenagem, reduzindo o risco de saturação e asfixia radicular.



**FIGURA 6 TABULEIRO DE SUBSTRATO**

## 3.6. Descrição dos Tratamentos

Foram testadas oito combinações experimentais, resultantes da interação de três fatores principais:

### 1. Tamanho inicial dos clones

- 7,5 cm
- 10,0 cm

### 2. Condutividade elétrica da solução de hidratação

- 1,5 mS/cm
- 2,5 mS/cm

### 3. Intensidade luminosa aplicada a partir do 5.º dia

- 80,68 PPFD
- 124,80 PPFD

Cada tratamento incluiu 33 clones, totalizando 99 indivíduos, distribuídos por 3 repetições de 33 clones.

O tratamento 6 foi considerado testemunho, por corresponder ao protocolo habitualmente utilizado pela empresa.

### 3.6.1 Tratamento I

O tratamento I (Figura 7) consistiu na utilização de 33 clones com o tamanho de 7,5 cm, hidratados com uma solução de 1,5 de Ec, e apenas com uma luz LED (80.68 PPFD) na total duração do ensaio.

De modo a utilizar o espaço útil para a realização de ensaios, e reproduzir os procedimentos utilizados normalmente na propagação de clones, utilizou-se o mesmo tabuleiro de aclimatação para cada par de tratamentos cujas variáveis em termos de luz e fertirrega fossem idênticas alterando-se apenas o tamanho do clone. Nomeadamente o tratamento I manteve-se na mesma campânula que o tratamento 5.



**FIGURA 7 TRATAMENTO 1**

### 3.6.2 Tratamento 2

O tratamento 2 (Figura 8) consistiu na utilização de 33 clones com o tamanho de 7,5 cm, hidratados com uma solução de 2,5 de Ec, e apenas com uma luz LED 80,68 PPFD na total duração do ensaio. Nomeadamente o tratamento 2 manteve-se na mesma câmpnula que o tratamento 6.



**FIGURA 8 TRATAMENTO 2**

### 3.6.3 Tratamento 3

O tratamento 3 (Figura 9) consistiu na utilização de 33 clones com o tamanho de 7,5 cm, hidratados com uma solução de 1,5 de Ec, e com duas luzes LED 124,80 PPFD a partir do quinto dia do ensaio. Nomeadamente o tratamento 3 manteve-se na mesma câmpnula que o tratamento 7.



**FIGURA 9 TRATAMENTO 3**

#### 3.6.4 Tratamento 4

O tratamento 4 (Figura 10) consistiu na utilização de 33 clones com o tamanho de 7,5 cm, hidratados com uma solução de 2,5 de Ec, e com duas luzes LED 124,80 PPFD a partir do quinto dia do ensaio. Nomeadamente o tratamento 4 manteve-se na mesma câmpnula que o tratamento 8.



**FIGURA 10 TRATAMENTO 4**

#### 3.6.5 Tratamento 5

O tratamento 5 (Figura 11) consistiu na utilização de 33 clones com o tamanho de 10 cm, hidratados com uma solução de 1,5 de Ec, e apenas com uma luz LED 80,68 PPFD na total duração do ensaio. Nomeadamente o tratamento 5 manteve-se na mesma câmpnula que o tratamento 1.



**FIGURA 11 TRATAMENTO 5**

### 3.6.6 Tratamento 6

O tratamento 6 (Figura 12) consistiu na utilização de 33 clones com o tamanho de 10 cm, hidratados com uma solução de 2,5 de Ec, e apenas com uma luz LED 80,68 PPFD na total da duração do ensaio. Nomeadamente o tratamento 6 manteve-se na mesma campânula que o tratamento 2.

O tratamento 6 é assim designado o testemunho pois segue as regras de propagação e os parâmetros realizados diariamente por parte da equipa na Herdade das Barrocas.



**FIGURA 12 TRATAMENTO 6**

### 3.6.7 Tratamento 7

O tratamento 7 (Figura 13) consistiu na utilização de 33 clones com o tamanho de 10 cm, hidratados com uma solução de 1,5 de Ec, e com duas luzes LED 124,80 PPFD a partir do quinto dia do ensaio. Nomeadamente o tratamento 7 manteve-se na mesma câmpnula que o tratamento 3.



**FIGURA 13 TRATAMENTO 7**

### 3.6.8 Tratamento 8

O tratamento 8 (Figura 14) consistiu na utilização de 33 clones com o tamanho de 10 cm, hidratados com uma solução de 2,5 de Ec, e com duas luzes LED 124,80 PPFD a partir do quinto dia do ensaio. Nomeadamente o tratamento 8 manteve-se na mesma câmpnula que o tratamento 4.



**FIGURA 14 TRATAMENTO 8**

### 3.7. Condições Ambientais Durante o Ensaio

Durante o ensaio os tabuleiros ficaram acondicionados dentro de tabuleiro cobertos por campânula como se pode observar na (Figura 15).



**FIGURA 15 TABULEIRO COM CAMPÂNULA**

A manutenção ambiental seguiu um protocolo em três fases:

Fase I – Indução (dias 0–5)

- Altos níveis de humidade relativa dentro da campânula (85–99%).
- Nebulização suave para evitar murchamento inicial.
- Iluminação moderada, ajustada para evitar fotoinibição.
- Mudança de campânula diariamente, a partir do segundo dia.

Fase II – Iniciação e expressão (dias 5–12)

- Abertura dos buracos da campânula entre 15 a 20 minutos diariamente, de modo a promover a resistência fisiológica.
- Início do enraizamento no interior do substrato.
- Ajuste da intensidade luminosa conforme tratamento.

Fase III – Aclimação (dias 12–18)

- Remoção das campânulas durante o máximo de tempo suportado pelos clones.
- São visíveis as raízes que circundam o substrato.
- Maior exposição luminosa.
- Redução significativa da humidade.
- Preparação para transplante.

Os valores ambientais foram monitorizados diariamente e ajustados para garantir estabilidade.

### 3.8. Avaliações e Parâmetros Medidos

Os parâmetros avaliados foram selecionados com base na literatura relativa à propagação vegetativa de *Cannabis sativa* L. e na experiência operacional da unidade produtiva.

a) Número de raízes por clone

- registado nos dias 12, 15 e 18 após a plantação;
- a observação ocorreu por inspeção visual cuidadosa, removendo ligeiramente o substrato sem danificar as raízes.

b) Número de folhas por clone

- contabilizado nos dias 15 e 18;
- permitiu avaliar vigor vegetativo durante o enraizamento.

c) Crescimento em altura

- medido nos dias 0 e 12;
- registado com régua milimétrica, desde a base do caule ao ápice.

d) Taxa de sobrevivência

- registada diariamente ao longo do ensaio.

### 3.9. Tratamento Estatístico dos Dados

Os dados recolhidos foram organizados em base matricial para posterior análise comparativa. Embora este estudo tenha carácter aplicado e exploratório, foram considerados os seguintes procedimentos:

- comparação direta entre médias dos tratamentos;
- identificação de tendências de resposta;
- discussão qualitativa suportada por valores médios e amplitude de variação.

Para análise estatística foram realizadas análises univariada e multivariada para detetar se existiram diferenças significativas nos diferentes tratamentos e dias de amostragem. As análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando o software PRIMER v6 (Clarke

e Warwick, 2001) com o software complementar PERMANOVA (Anderson *et al.*, 2008). A análise PERMANOVA foi conduzida em uma matriz de similaridade de Bray-Curtis (Clarke e Green, 1988). A hipótese nula foi rejeitada a um nível de significância  $<0.05$  (se o número de permutações fosse menor que 150, uma permutação de Monte Carlo  $p$  será usada). Sempre que foram detetadas interações significativas nos efeitos dos fatores (Tratamento e Tempo), estas foram examinadas usando comparações a posteriori (par a par), usando 9999 permutações sob um modelo reduzido.

### 3.10. Cronograma Experimental

O ensaio decorreu ao longo de 18 dias, organizados da seguinte forma:

- Dia 0 – colheita das estacas, preparação e plantação;
- Dias 1–5 – fase de aclimação;
- Dia 5 – aplicação diferenciada da intensidade luminosa;
- Dias 12, 15 e 18 – avaliações sucessivas do desenvolvimento radicular;
- Dia 18 – última avaliação e encerramento do ensaio.

## 4. Resultados

O tratamento 2 apresentou maior percentagem no número de clones com formação de folhas após 15 e 18 dias de ensaio (37,4 e 68,7%, respetivamente). Os tratamentos 1, 5 e 6, após 18 dias, apresentaram um crescimento de 60% em número de folhas quando comparado ao tratamento 2 (Quadro 1). Os restantes tratamentos apresentaram um crescimento de 42% após 18 dias de ensaio.

**QUADRO 1 PERCENTAGEM DO NÚMERO DE CLONES COM FORMAÇÃO DE FOLHAS APÓS 15 E 18 DIAS EM CADA UM DOS TRATAMENTOS (1 – 8).**

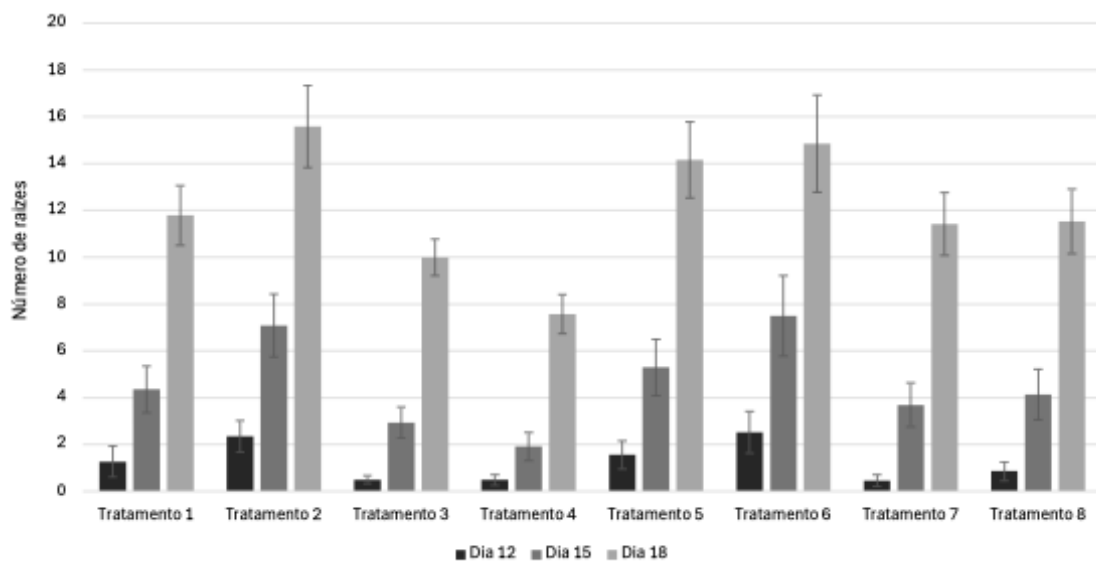
Tratamentos	Percentagem de clones com folhas (%)	
	15 dias	18 dias
1	29,3	61,6
2	37,4	68,7
3	18,2	36,4
4	16,2	46,5
5	32,3	62,6
6	31,3	60,6
7	19,2	32,3
8	23,2	41,4

Após 18 dias de ensaio, três tratamentos apresentaram percentagens superiores a 70% no número de clones com formação de raízes: os tratamentos 1, 2 e 5 (74,7%, 79,8% e 74,7%, respetivamente). Nos restantes tratamentos, a percentagem de clones com formação de raízes foi inferior a 70%, sendo o valor mais baixo observado no tratamento 7 (Quadro 2).

**QUADRO 2 PERCENTAGEM DO NÚMERO DE CLONES COM FORMAÇÃO DE RAÍZES APÓS 12, 15 E 18 DIAS EM CADA UM DOS TRATAMENTOS (1 – 8).**

Tratamentos	Percentagem de raízes (%)		
	12 dias	15 dias	18 dias
1	15,2	32,3	74,7
2	23,2	39,4	79,8
3	8,1	22,2	52,5
4	8,1	19,2	59,6
5	20,2	35,4	74,7
6	18,2	32,3	69,7
7	5,1	19,2	40,4
8	10,1	23,2	47,5

No tratamento 2 a média  $\pm$  erro padrão (SE) no número de raízes após 12 dias foi de  $2,34 \pm 0,68$  e após 15 dias foi de  $7,09 \pm 1,34$ . Após 18 dias de ensaio, o tratamento 2 apresentou maior média no número de raízes  $15,59 \pm 1,76$ . O tratamento 6 apresentou valores médios de  $2,52 \pm 0,89$  aos 12 dias e  $7,50 \pm 1,72$  aos 15 dias, atingindo  $14,85 \pm 2,07$  raízes aos 18 dias. No tratamento 5, a média de raízes após 12 dias foi de  $1,56 \pm 0,59$  e após 15 dias foi de  $5,30 \pm 1,20$ . Após 18 dias de ensaio o tratamento 5 destacou-se com uma média de número de raízes de  $14,17 \pm 1,62$  (Figura 16).



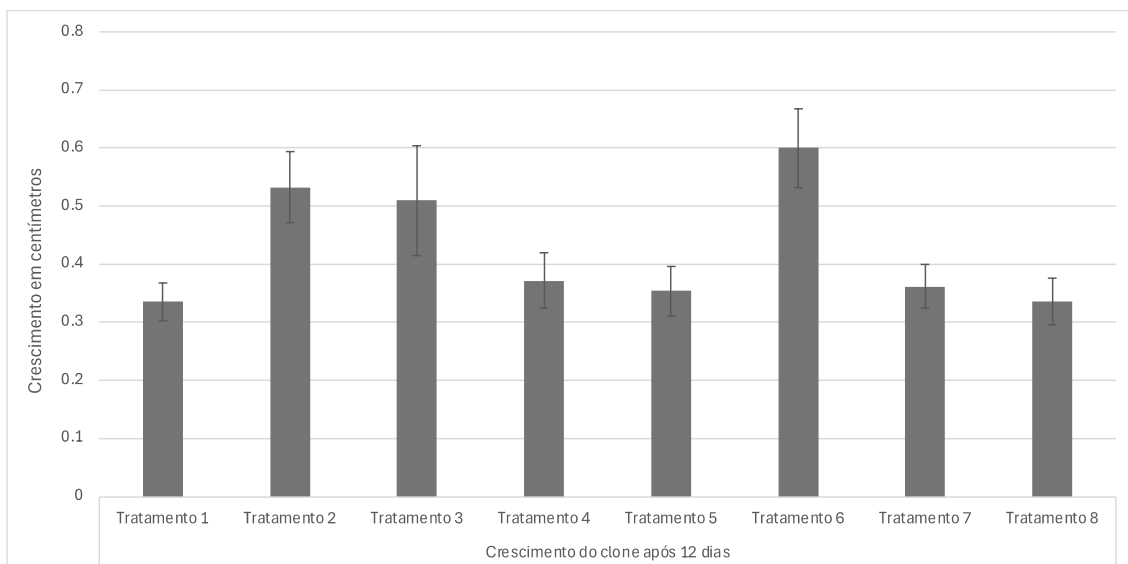
**FIGURA 16 MÉDIA  $\pm$  ERRO PADRÃO (SE) DO NÚMERO DE RAÍZES APÓS 12, 15 E 18 DIAS DE ENSAIO EM CADA UM DOS TRATAMENTOS (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 E 8).**

Apesar destas diferenças nas médias do número de raízes entre os tratamentos após 18 dias de ensaio, a análise de permutação PERMANOVA aplicada aos tratamentos somente revelou valores significativamente maiores entre todos os tratamentos em comparação ao tratamento 4 ( $p < 0,05$ ). As restantes comparações entre os tratamentos não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) (Quadro 3).

**QUADRO 3 DETALHES DO TESTE PERMANOVA DE 1 FATOR “TRATAMENTO” (1 NÍVEL, FIXO), PARA A VARIÁVEL NÚMERO DE RAÍZES APÓS 18 DIAS DE ENSAIO. OS VALORES A NEGRITO DESTACAM EFEITOS E INTERAÇÕES SIGNIFICATIVAS (P < 0,05).**

Comparações	t	permutações	P(MC)
Tratamento 1, Tratamento 2	1,132	9914	0,2571
Tratamento 1, Tratamento 3	0,37487	9907	0,7401
Tratamento 1, Tratamento 4	2,1865	9917	<b>0,0273</b>
Tratamento 1, Tratamento 5	1,0517	9905	0,2955
Tratamento 1, Tratamento 6	0,654	9913	0,5292
Tratamento 1, Tratamento 7	9,5226E-2	9930	0,9711
Tratamento 1, Tratamento 8	1,8995E-2	9910	0,9998
Tratamento 2, Tratamento 3	1,1429	9927	0,2549
Tratamento 2, Tratamento 4	3,0338	9905	<b>0,0018</b>
Tratamento 2, Tratamento 5	0,28367	9923	0,8401
Tratamento 2, Tratamento 6	0,42845	9922	0,7126
Tratamento 2, Tratamento 7	0,84545	9940	0,3945
Tratamento 2, Tratamento 8	1,0242	9936	0,3105
Tratamento 3, Tratamento 4	2,4754	9910	<b>0,0148</b>
Tratamento 3, Tratamento 5	1,0674	9921	0,2942
Tratamento 3, Tratamento 6	0,77325	9924	0,4428
Tratamento 3, Tratamento 7	0,31947	9880	0,7703
Tratamento 3, Tratamento 8	0,35132	9921	0,7619
Tratamento 4, Tratamento 5	3,2354	9921	<b>0,0015</b>
Tratamento 4, Tratamento 6	2,5674	9913	<b>0,0123</b>
Tratamento 4, Tratamento 7	2,0469	9904	<b>0,0449</b>
Tratamento 4, Tratamento 8	2,0785	9925	<b>0,0376</b>
Tratamento 5, Tratamento 6	0,37833	9929	0,7443
Tratamento 5, Tratamento 7	0,78861	9931	0,4472
Tratamento 5, Tratamento 8	0,96359	9932	0,3349
Tratamento 6, Tratamento 7	0,47845	9922	0,6543
Tratamento 6, Tratamento 8	0,59957	9916	0,582
Tratamento 7, Tratamento 8	8,3911E-2	9913	0,9782

Após 12 dias de tratamento, o tratamento 6 apresentou maior média  $\pm$  erro padrão (SE),  $0,60 \pm 0,07$  no crescimento do caule, seguido do tratamento 2 com  $0,53 \pm 0,06$ , tratamento 3 com  $0,51 \pm 0,09$ , tratamento 4 com  $0,37 \pm 0,05$ , tratamento 7 com  $0,36 \pm 0,04$ , tratamento 5 com  $0,35 \pm 0,04$ , tratamento 1 com  $0,34 \pm 0,03$  e tratamento 8 com  $0,34 \pm 0,04$  (Figura 17).



**FIGURA 17 MÉDIA ± ERRO PADRÃO (SE) DO CRESCIMENTO DO CAULE APÓS 12 DIAS DE ENSAIO EM CADA UM DOS TRATAMENTOS (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 E 8).**

A análise de permutação PERMANOVA aplicada aos tratamentos não revelou diferenças significativas entre os tratamentos 6, 2 e 3 em termos de crescimento do caule. No entanto, o crescimento dos caules no tratamento 6 foi significativamente mais elevado em comparação a todos os outros tratamentos ( $p < 0,05$ ) após 12 dias de ensaios. Para além disso, a análise de permutação PERMANOVA revelou que o crescimento do caule no tratamento 2 não apresentou diferenças significativas em comparação ao tratamento 7 ( $p > 0,05$ ), e o tratamento 3 não apresentou diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) em comparação aos restantes tratamentos (Quadro 4).

**QUADRO 4 DETALHES DO TESTE PERMANOVA DE 1 FATOR “TRATAMENTO” (1 NÍVEL, FIXO), PARA A VARIÁVEL CRESCIMENTO DO CAULE APÓS 12 DIAS DE ENSAIO. OS VALORES A NEGRITO DESTACAM EFEITOS E INTERAÇÕES SIGNIFICATIVAS ( $P < 0,05$ ).**

Comparações	t	permutações	P(MC)
Tratamento 1, Tratamento 2	2,6559	9938	<b>0,0058</b>
Tratamento 1, Tratamento 3	1,0846	9897	0,2859
Tratamento 1, Tratamento 4	0,42207	9798	0,7326
Tratamento 1, Tratamento 5	0,57513	9919	0,5993
Tratamento 1, Tratamento 6	3,2048	9933	<b>0,0009</b>
Tratamento 1, Tratamento 7	0,83902	9037	0,4056
Tratamento 1, Tratamento 8	0,28115	9620	0,8521
Tratamento 2, Tratamento 3	1,3094	9924	0,1857
Tratamento 2, Tratamento 4	1,9356	9936	<b>0,0485</b>
Tratamento 2, Tratamento 5	2,9146	9950	<b>0,0031</b>
Tratamento 2, Tratamento 6	0,77911	9939	0,4671
Tratamento 2, Tratamento 7	1,4812	9862	0,1328

Tratamento 2, Tratamento 8	2,5376	9928	<b>0,0107</b>
Tratamento 3, Tratamento 4	0,68621	9880	0,5274
Tratamento 3, Tratamento 5	1,1055	9862	0,2718
Tratamento 3, Tratamento 6	1,6794	9933	0,0843
Tratamento 3, Tratamento 7	0,76951	9680	0,4641
Tratamento 3, Tratamento 8	1,0003	9864	0,3293
Tratamento 4, Tratamento 5	0,75079	9858	0,4669
Tratamento 4, Tratamento 6	2,4516	9936	<b>0,011</b>
Tratamento 4, Tratamento 7	0,47905	8856	0,6825
Tratamento 4, Tratamento 8	0,5388	9706	0,635
Tratamento 5, Tratamento 6	3,3566	9941	<b>0,0008</b>
Tratamento 5, Tratamento 7	1,179	9546	0,2397
Tratamento 5, Tratamento 8	0,25151	9828	0,8819
Tratamento 6, Tratamento 7	2,0318	9907	<b>0,041</b>
Tratamento 6, Tratamento 8	3,0014	9940	<b>0,0024</b>
Tratamento 7, Tratamento 8	0,97087	7742	0,3353

---

## 5. Discussão

Os resultados obtidos demonstraram que o tratamento 2 apresentou, de forma consistente, os melhores resultados em termos de percentagem de enraizamento, formação de folhas e número médio de raízes.

Referentemente à influência do tamanho das estacas no enraizamento, verificámos que os clones com 10,0 cm (tratamento 6) apresentaram uma maior percentagem de crescimento do caule, nomeadamente o tratamento 6 diferenciou-se pela obtenção dos melhores resultados entre os 8 tratamentos no requisito do crescimento do caule, seguido do tratamento 2, com clones com um tamanho de 7,5 cm. Estes resultados podem dever-se a dois fatores, primeiro, ao fator de as maiores estacas possuírem tecidos onde existe uma maior acumulação de hidratos de carbono, que são bastante importantes para a primeira fase do enraizamento, e segundo ao fator de estacas mais compridas serem mais espessas no caule e por conseguinte, terem maior capacidade para suportar variações climáticas (Caplan *et al*, 2018; Hesami *et al*, 2023). Estudos realizados em espécies propagadas (como eucaliptos híbridos) por estacas demonstram que o comprimento da estaca, influencia diretamente a formação/número de raízes e o desenvolvimento de novas raízes. Em eucaliptos híbridos, estacas com cerca de 8,0–10,0 cm de comprimento apresentaram uma maior percentagem de enraizamento, número de raízes e crescimento vegetativo do que estacas muito pequenas (mais ou menos 5,0 cm), o que pode sugerir que há um intervalo ótimo de comprimento que tem como consequência o melhor desenvolvimento radicular (Naidu e Jones, 2009). Os resultados obtidos no presente estudo corroboram estas observações onde se verificou que, aos 18 dias, os clones submetidos ao tratamento 6 apresentaram um crescimento do caule superior em relação aos clones do tratamento 2. Este resultado sugere que as condições associadas ao tratamento 6, proporcionaram um melhor desempenho no desenvolvimento inicial das plantas. Assim, os dados obtidos reforçam a ideia de que a otimização do comprimento das estacas constitui um fator determinante para o sucesso do enraizamento e para o subsequente crescimento vegetativo.

Contabilizando o impacto da condutividade elétrica na fase inicial da hidratação, reportamos que uma condutividade de 1,5 teve um menor efeito no crescimento dos clones, das raízes e das folhas, apenas com um Ec de 2,5 mS/cm, como aplicado no

tratamento 2 e 6, apresentou benefícios para a hidratação. É também importante destacar que o tratamento com Ec 2,5 (tratamento 2 com clones de 7,5 cm) apresentou maior formação de folhas em comparação aos tratamentos com Ec 1,5 (como tratamento 1 com clones com 7,5 cm e 5 com clones com o tamanho de 10,0 cm). Ou seja, em termos de avaliação de diferentes parâmetros, nomeadamente para o crescimento do caule e das raízes, percebeu-se que um Ec de 2,5 influenciou positivamente o crescimento do caule e das raízes, como observado no tratamento 2 e 6 cujo crescimento tanto dos clones como das raízes foram superiores. Estes resultados poderão indicar que em clones com tamanho reduzido, conseqüentemente com reserva interna e uma área para realizar a fotossíntese reduzida, poderão ter influência na passagem pelo stress osmótico quando os valores de condutividades são elevados (Dilena *et al.*, 2025, Xu *et al.*, 2021). Contudo, clones maiores tem maior possibilidade de ultrapassar este stress devido a terem uma maior capacidade metabólica. Nomeadamente, Janssen (2021) descreveu que uma concentração moderada de nutrientes, geralmente entre 1,6 – 2,4 mS/cm, favorece o desenvolvimento radicular e foliar de estacas, demonstrando que existe um efeito dependente do tipo de cultivar e das condições de cultivo. Verificou-se que estes resultados apresentam uma dualidade de critérios e que conseqüentemente a Ec não deve ser tida em conta como apenas um fator independente, mas como um fator acoplado a outros fatores já aqui descritos. No que diz respeito ao efeito da intensidade luminosa, percebemos que este foi um dos fatores mais divergente entre os tratamentos, mais especificamente, a aplicação de 124,80 PPFD (tratamento 3, 4, 7 e 8) e 80,68 PPFD (tratamento 1, 2, 5 e 6). Estudos indicam que elevada intensidade luminosa pode aumentar a necessidade da planta por água e energia, o que pode culminar em stress hídrico e reduzir eficiência de enraizamento.

Estes estudos poderão justificar o porquê de os tratamentos submetidos à aplicação de 124,80 PPFD resultarem em percentagens menores de clones com folhas ou raízes em comparação com 80,68 PPFD aplicados ao tratamento 2 e 6 (Xu *et al.*, 2021).

Baseando-nos nestes fatores, compreende-se que os resultados indicam que o sucesso do enraizamento depende de mais do que um fator e da interação entre eles, sendo que a agregação mais efetiva foi entre os clones com 10,0 cm, uma intensidade de 80,68 PPFD e Ec moderada de 2,5 mS/cm. Colocamos a hipótese de esta ser a melhor conjugação devido a um clone maior ter reservas mais alargadas, à intensidade luminosa

influenciar positivamente a rápida reposição energética e à Ec correta fornecer os nutrientes essenciais sem causar stress aos clones.

Dos oito tratamentos estudados, o tratamento dois foi o que obteve um melhor resultado, seguido do tratamento seis que é o tratamento utilizado na empresa e concluímos que o procedimento usado é eficiente, mas pode ser sempre melhorado através das combinações mencionadas no decorrer do estudo para promover uma taxa de enraizamento superior.

Os resultados obtidos podem ser transacionados para uma produção de maior escala, uma vez que são relevantes para produção da Cannabis medicinal.

Apesar deste estudo apresentar resultados bastante interessantes, é necessário considerar certas limitações, como a ausência de uma análise estatística inferencial, o uso de uma só cultivar e limite temporal de apenas 18 dias. No futuro recomendamos que se façam análises mais específicas às raízes formadas, que se acompanhe o desenvolvimento dos clones nas diferentes fases e que se realizem novos teste com diferentes espectros luminosos e fotoperíodos.

## 6. Conclusões

O ensaio realizado permitiu fazer-se a comparação entre os oito tratamentos no enraizamento de clones da cultivar HBI55 de *Cannabis sativa* L. A variedade em questão já era referenciada como contendo baixas taxas de enraizamento durante a propagação vegetativa. A análise dos resultados, juntamente com a informação recolhida na presente pesquisa bibliográfica, permitiu identificar fatores críticos que influenciam a taxa de enraizamento e opções concretas para a melhoria do protocolo de propagação utilizado neste caso na empresa.

As principais conclusões retiradas foram que o tamanho inicial da estaca (10,0 cm) foi o fator que teve o maior impacto positivo, tendo influenciado significativamente o maior crescimento do caule. Já as estacas com (7,5 cm) promoverão o maior crescimento de número de raízes, desenvolvimento foliar, bem como o crescimento em altura. As estacas com tamanho mais curto (7,5 cm) apresentaram menor robustez fisiológica e mais sensibilidade a fatores ambientais.

A intensidade de luz (80,68 PPF/D), que foi utilizada a partir do quinto dia do ensaio demonstrou ser uma mais-valia para acelerar o metabolismo fotossintético dos clones, para promover a atividade meristemática e fazer com que os desenvolvimentos das raízes adventícias aconteçam de forma mais rápida e eficiente.

A condutividade elétrica da solução de fertirrega (1,5 vs 2,5 mS/cm) teve impacto dependendo do tamanho inicial da estaca, sendo que o Ec de 2,5 apresentou vantagens tanto para os clones de 10 cm, como para os clones de 7,5 cm.

Após uma análise completa dos resultados, o sucesso do enraizamento depende da interação entre os fatores avaliados, não sendo possível otimizar apenas uma variável isolada.

O testemunho, neste caso o (Tratamento 6) é o protocolo definido pela Herdade das Barrocas, e apresentou um desempenho intermédio, o que demonstra que é eficaz, apesar de não ser a combinação mais eficiente entre os tratamentos estudados.

Pela interpretação dos resultados a combinação com maior sucesso em termos de enraizamento da cultivar HBI55, seria estacas de 7,5 cm, intensidade de luz de 80,68 PPF/D a partir do quinto dia e a condutividade elétrica moderada a elevada (1,5-2,5 mS/cm).

O presente estudo parece sugerir que o tratamento 2 apresenta uma melhor capacidade

de enraizamento quando comparado com os outros tratamentos realizados. No entanto, é importante referir que novos estudos devem ser realizados, por exemplo através do recurso a outras condições, de modo a comprovar estatisticamente que o tratamento 2 é de facto melhor que o tratamento 6.

Se no futuro aplicarmos o conhecimento adquirido no presente ensaio, poderá aumentar a taxa de sucesso na propagação da cultivar HBI55, em termos de tempo para o enraizamento, ter um lote mais uniforme e por consequência ter um produto final de qualidade.

Através deste estudo é possível, alterar e melhorar o processo de clonagem da cultivar HBI55, deixando em aberto ainda inúmeras combinações que podem ser exploradas como por exemplo outras combinações de fito reguladores, diferentes condições ambientais bem como a utilização de outras técnicas de propagação.

## 7. Bibliografija

Anderson, M.J., Gorley, R.N., Clarke, K.R., (2008). PERMANOVA A+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. *PRIMER-E*, Plymouth, UK.

Bitežnik, T., Slatnar, A., Kovač, M., & Šircelj, H. (2024). The efficiency of CBD production using grafted *Cannabis sativa* L. plants is highly dependent on the type of rootstock: a study. *Plants*, 13(8), 1117. <https://doi.org/10.3390/plants13081117>

Boonsongcheep, P., & Pongkitwitoon, B. (2020). Factors affecting micropropagation of *Cannabis sativa* L.: A review. *Pharmaceutical Sciences Asia*, 47(1), 21–29. <https://doi.org/10.29090/psa.2020.01.019.0030>

Brinch-Pedersen, M. (2023). Cannabinoid receptor modulation and therapeutic implications. *Pharmacology Review Letters*, 12(2), 87–103.

Caplan, D. (2019). Optimizing vegetative propagation in Cannabis production systems. *University of Guelph Press*.

Clarke, K., Green, R., (1988). Statistical design and analysis for a biological effects study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 46, 213-226.

Clarke, Kenneth R.; Warwick, Richard M. (2001). Changes in Marine Communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation. 2nd ed. Plymouth: PRIMER-E.

Crocq, M. A. (2020). A history of cannabis and the endocannabinoid system *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 22(3), 223–230. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2020.22.3/mcrocq>

Caplan, D., Stemeroff, J., Dixon, M., & Zheng, Y. (2018). Vegetative propagation of cannabis by stem cuttings: effects of leaf number, cutting position, rooting hormone, and leaf tip removal. *Canadian Journal of Plant Science*, 98(5), 1126–1132. <https://doi.org/10.1139/CJPS-2018-0038>.

Dilena, E., Hunt, I., & Close, D. C. (2025). Optimal nitrogen rates and clonal effects on cannabinoid yields of medicinal cannabis. *Scientific Reports*, 15, 12341. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-96761-6>

Filho, J. F. D. C. L., Schuchman, S., Creager, K. E., Saunders, G. G., Diatta, A. A., Didaran, F., Boren, A. C., & Gage, K. L. (2024). Implementation of a Standardized Cloning and Propagation Protocol for Optimizing *Cannabis sativa* L. Cultivation. *Research Square* (preprint). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-5434677/v1>

Fordjour, E., Manful, C. F., Sey, A. A., Javed, R., Pham, T. H., Thomas, R., & Cheema, M. (2023). Cannabis: a multifaceted plant with endless potentials. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1200269. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1200269>

Hesami, M., Pepe, M., Baiton, A., & Jones, A. M. P. (2023). Current Status and Future Prospects in Cannabinoid Production through in vitro Culture and Synthetic Biology. *Plants*, 12(20), 3646. <https://doi.org/10.3390/plants12203646>

Hoch, E., Volkow, N. D., Friemel, C. M., Lorenzetti, V., Freeman, T. P., & Hall, W. (2025). Cannabis, cannabinoids and health: a review of evidence on risks and medical benefits. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 275, 281–292. <https://doi.org/10.1007/s00406-024-01880-2>

Ioannidis, K., Dadiotis, E., Mitsis, V., Melliou, E., & Magiatis, P. (2020). Biotechnological Approaches on Two High CBD and CBG *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae) Varieties: In Vitro Regeneration and Phytochemical Consistency Evaluation of Micropropagated Plants Using Quantitative <sup>1</sup>H-NMR. *Molecules*, 25(24), 5928. <https://doi.org/10.3390/molecules25245928>

Janssen, F. (2021). Method of propagating a cannabis cutting. *International application published under the patent cooperation treaty (PCT)*. WO2021/136778A1. <https://patents.google.com/patent/WO2021136781A1/en>

Naidu, R. D., & Jones, N. B. (2009). The effect of cutting length on the rooting and growth of subtropical Eucalyptus hybrid clones in South Africa. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, 71(4), 297–301. <https://doi.org/10.2989/SF.2009.71.4.7.1034>

Nemati, R., Fortin, J.-P., Craig, J., & Donald, S. (2021). Growing Mediums for Medical Cannabis Production in North America. *Agronomy*, 11(7), 1366. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071366>

Perrone, C., Kline, P., & DuBois, J. (2022). Cloning Successive Generations of Industrial Hemp (*Cannabis sativa*) to Assess Cannabinoid Profiles. *Agricultural Sciences*, 13, 1291–1308. <https://doi.org/10.4236/as.2022.1312079>

Wise, K., Selby-Pham, J., Chai, X., Simovich, T., Gupta, S., & Gill, H. (2024). Fertiliser supplementation with a biostimulant complex of fish hydrolysate, Aloe vera extract, and kelp alters cannabis root architecture to enhance nutrient uptake. *Scientia Horticulturae*, 323, 112483. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112483>

Wróbel, T., Dreger, M., Wielgus, K., & Słomski, R. (2018). The application of plant in vitro cultures in cannabinoid production. *Biotechnology Letters*, 40(3), 445–454. <https://doi.org/10.1007/s10529-017-2492-1>

Xu, W., Lu, N., Kikuchi, M., & Takagaki, M., (2021). Effects of Node Position and Electric Conductivity of Nutrient Solution on Adventitious Rooting of Nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) Cuttings. *Agronomy, Horticultural and Floricultural Crops*. 11(2), 363. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020363>