

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

João Marmelo¹, Andreia Saragoça^{1,2*}, Patrick Materatski^{3,4}, Tomás Ribeiro⁴, Ana Isabel Cordeiro^{1,4}

¹ Escola Superior de Biociências de Elvas, Instituto Politécnico de Portalegre, 7300-100 Portalegre, Portugal

² Faculdade de Ciências, Universidad de Extremadura, 06006 Badajoz, Espanha

³ CERNAS – Centro de Investigação de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade (CERNAS), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Santarém, Quinta do Galinheiro—S. Pedro, 2001-904 Santarém, Portugal.

⁴ MED – Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento & CHANGE – Instituto para as Alterações Globais e Sustentabilidade, IIFA – Instituto de Investigação e Formação Avançada, Universidade de Évora, Largo dos Colegiais 2, 7004-516 Évora, Portugal.

*Email: andreia.saragoca@ipportalegre.pt

Summary

Cannabis sativa L. has gained increasing global prominence for medicinal and therapeutic purposes, and in Portugal it is an expanding crop. Due to the need to produce new plants through macropropagation, a cultivar with a low rooting rate was selected to evaluate rooting performance under different propagation conditions. A comparative analysis involving eight treatments was conducted to determine which treatment achieved the highest rooting success. The treatments were based on three variables: clone size, light intensity from the fifth day of rooting onwards, and the electrical conductivity of the fertigation solution. Throughout the trial, thirty-three clones were propagated for each of the eight treatments in their respective substrate trays. Measurements were taken from each clone at two different time points, and the emergence of new leaves was also monitored. Root development was assessed by counting the number of visible roots on three separate occasions to obtain more reliable results. Each of the eight treatments was replicated three times, with treatments randomly distributed within the propagation room to minimise experimental bias. Following data collection, statistical analyses were performed to determine the effects of the different treatments. Comparison with the control treatment allowed the identification of the factors that most strongly influenced clone rooting success and subsequent plant development.

Keywords: *Cannabis sativa* L.; Rooting; Macropropagation; Substrate; Variety.

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 macropropagação 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 a 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, é possível definir qual ou quais os pressupostos que influencia no enraizamento dos clones bem como no seu desenvolvimento.

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

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 Δ^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, 2020).

Devido a este facto, 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, 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, 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.

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:

- Avaliar o efeito do tamanho inicial dos clones (7,5 cm versus 10 cm) no processo de enraizamento.
- Analisar a influência da condutividade elétrica (1,5 versus 2,5 mS/cm) da solução de hidratação inicial.
- Estudar o impacto da intensidade luminosa aplicada a partir do quinto dia (80,68 densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) versus 124,8 PPFD).
- Quantificar o número de raízes, o desenvolvimento foliar e o crescimento em altura sob cada tratamento.
- Identificar qual ou quais tratamentos promovem maior sucesso de enraizamento, comparativamente ao protocolo testemunho (tratamento 6).
- Propor recomendações técnicas visando melhorar a eficiência da propagação da cultivar HB155.

Materiais e Métodos

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 de 2025, 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.

Caracterização das Instalações de Propagação

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

- Iluminação diodo 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%.

Material Vegetal

O material vegetal consistiu em estacas clonais obtidas de plantas-mãe da cultivar HB155, 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.

Preparação dos Clones

Após a colheita das estacas, procedeu-se a:

- Remoção parcial das folhas basais com auxílio da tesoura evitando excesso de superfície transpiratória;
- Imersão da zona basal em solução de hidratação, com pH a 5,9 e transferência das estacas para o laboratório de propagação;
- Corte diagonal da base da estaca, ampliando a área disponível para formação de raízes adventícias, e de seguida o corte da ponta das folhas;
- De modo a promover o enraizamento utilizou-se previamente à colocação dos clones em substrato o Rhizopon AA 0.5% numa concentração de 10-25 mg / clone;
- Inserção imediata no substrato previamente humedecido.

Substrato Utilizado

O substrato utilizado 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.

Descrição dos Tratamentos

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

1. Tamanho inicial dos clones

- 7,5 cm
- 10 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
- 124,8 PPFD

Cada tratamento incluiu 33 clones, totalizando 99 indivíduos, distribuídos por 3 repetições de 11 clones (Tabela 1).

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

Tabela 1 Descrição dos diferentes tratamentos utilizados

Tratamento	Tamanho do clone	Condutividade elétrica da solução de hidratação	Intensidade luminosa aplicada a partir do 5.º dia
1	7,5	1,5	80.68 PPFD
2	7,5	2,5	80.68 PPFD
3	7,5	1,5	124.8 PPFD
4	7,5	2,5	124.8 PPFD
5	10	1,5	80.68 PPFD
6	10	2,5	80.68 PPFD
7	10	1,5	124.8 PPFD
8	10	2,5	124.8 PPFD

Condições Ambientais Durante o Ensaio

Durante o ensaio os tabuleiros ficaram acondicionados dentro de tabuleiro cobertos por uma 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.

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.

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.

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.

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 (Tabela 2). Os restantes tratamentos apresentaram um crescimento de 42% após 18 dias de ensaio.

Tabela 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 (Tabela 3).

Tabela 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 ± 0.68 e após 15 dias foi de 7.09 ± 1.34 . Após 18 dias de ensaio, o tratamento 2 apresentou maior média no número de raízes 15.59 ± 1.76 . O tratamento 6 apresentou valores médios de 2.52 ± 0.89 aos 12 dias e 7.50 ± 1.72 aos 15 dias, atingindo 14.85 ± 2.07 raízes aos 18 dias. No tratamento 5, a média de raízes após 12 dias foi de 1.56 ± 0.59 e após 15 dias foi de 5.30 ± 1.20 . Após 18 dias de ensaio o tratamento 5 destacou-se com uma média de número de raízes de 14.17 ± 1.62 (Figura 1).

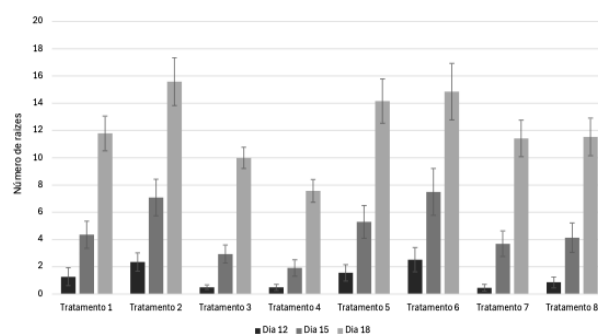


Figura 1 Média $\pm$ erro padrão (se) do número de raízes após 12, 15 e 18 dias de ensaio em cada um dos tratamentos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8).

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 ($p > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 3 Detalhes do teste PERMANOVA de 1 fator “Tratamento” (T) (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)
T1, T2	1,132	9914	0,2571
T1, T3	0,37487	9907	0,7401
T1, T4	2,1865	9917	0,0273
T1, T5	1,0517	9905	0,2955
T1, T6	0,654	9913	0,5292
T1, T7	9,5226E-2	9930	0,9711
T1, T8	1,8995E-2	9910	0,9998
T2, T3	1,1429	9927	0,2549
T2, T4	3,0338	9905	0,0018
T2, T5	0,28367	9923	0,8401
T2, T6	0,42845	9922	0,7126
T2, T7	0,84545	9940	0,3945
T2, T8	1,0242	9936	0,3105
T3, T4	2,4754	9910	0,0148
T3, T5	1,0674	9921	0,2942

T3, T6	0,77325	9924	0,4428
T3, T7	0,31947	9880	0,7703
T3, T8	0,35132	9921	0,7619
T4, T5	3,2354	9921	0,0015
T4, T6	2,5674	9913	0,0123
T4, T7	2,0469	9904	0,0449
T4, T8	2,0785	9925	0,0376
T5, T6	0,37833	9929	0,7443
T5, T7	0,78861	9931	0,4472
T5, T8	0,96359	9932	0,3349
T6, T7	0,47845	9922	0,6543
T6, T8	0,59957	9916	0,582
T7, T8	8,3911E-2	9913	0,9782

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 (Tabela 5).

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 2).

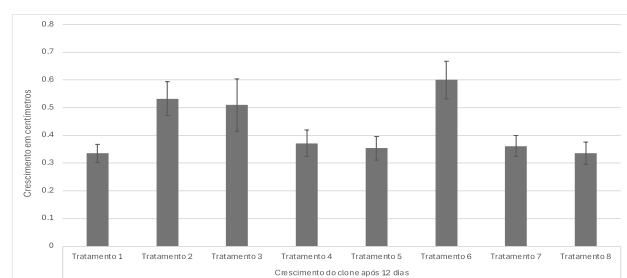


Figura 2 Média $\pm$ erro padrão (SE) do crescimento do caule após 12 dias de ensaio em cada um dos tratamentos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8).

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

Tabela 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)
T1, T2	2,6559	9938	0,0058
T1, T3	1,0846	9897	0,2859
T1, T4	0,42207	9798	0,7326
T1, T5	0,57513	9919	0,5993
T1, T6	3,2048	9933	0,0009
T1, T7	0,83902	9037	0,4056
T1, T8	0,28115	9620	0,8521
T2, T3	1,3094	9924	0,1857
T2, T4	1,9356	9936	0,0485
T2, T5	2,9146	9950	0,0031
T2, T6	0,77911	9939	0,4671
T2, T7	1,4812	9862	0,1328
T2, T8	2,5376	9928	0,0107
T3, T4	0,68621	9880	0,5274
T3, T5	1,1055	9862	0,2718
T3, T6	1,6794	9933	0,0843
T3, T7	0,76951	9680	0,4641
T3, T8	1,0003	9864	0,3293
T4, T5	0,75079	9858	0,4669
T4, T6	2,4516	9936	0,011
T4, T7	0,47905	8856	0,6825
T4, T8	0,5388	9706	0,635
T5, T6	3,3566	9941	0,0008
T5, T7	1,179	9546	0,2397
T5, T8	0,25151	9828	0,8819
T6, T7	2,0318	9907	0,041
T6, T8	3,0014	9940	0,0024
T7, T8	0,97087	7742	0,3353

Discussão

Os resultados obtidos demonstraram que o tratamento 2 apresentou 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 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 (Deron, 2018; Hesami, 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 8–10 cm de comprimento apresentaram uma maior percentagem de enraizamento, número de raízes e crescimento vegetativo do que estacas muito pequenas (mais ou menos 5 cm), o que pode sugerir que há um intervalo ótimo de comprimento que tem como consequência o melhor desenvolvimento radicular (Naidu, 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 E_c 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 E_c 2,5 (tratamento 2 com clones de 7.5 cm) apresentou maior formação de folhas em comparação aos tratamentos com E_c 1,5 (como tratamento 1 com clones com 7.5 cm e 5 com clones com o tamanho de 10 cm). Ou seja, em termos de avaliação de diferentes parâmetros, nomeadamente para o crescimento do caule e das raízes, percebeu-se que um E_c de 2,5 influencia 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, consequentemente com reserva interna e uma área para realizar a fotossíntese reduzida, poderão influenciar na passagem pelo stress osmótico quando os valores de condutividades são elevados (Dilena et al., 2025, Xu, 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 consequentemente 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 124,8 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 124,8 PPFD resultarem em percentagens menores de clones com folhas ou raízes em comparação com 80,68 PPFD aplicados ao tratamento 2 e 6 (Xu, 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 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.

Conclusões

O ensaio realizado permitiu fazer-se a comparação entre os oito tratamentos no enraizamento de clones da cultivar HB155 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 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 PPFD), 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 HB155, seria estacas de 7,5 cm, intensidade de luz de 80,68 PPFD

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 HB155, 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 HB155, 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.

Bibliografia

- Anderson, M.J., Gorley, R.N., Clarke, K.R. (2008). PERMANOVA A+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E, Plymouth, UK.
- Clarke, K., Green, R. (1988). Statistical design and analysis for a biological effects study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 46, 213-226.
- Clarke, K.R., Warwick, R.M. (2001). *Changes in Marine Communities: an Approach to Statistical Analysis and Interpretation*, second ed.
- 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>
- Deron, A. (2018). The role of leaf area and cutting morphology in rooting efficiency of *Cannabis sativa* L. *Horticultural Science Reviews*, 7(1), 44–56.
- Dilena, B. (2025). Electrical conductivity effects on early root development in vegetative cuttings. *Journal of Plant Nutrition and Growth*, 15(1), 55–70.
- Hesami, M. (2023). Trichome biology and cannabinoid biosynthesis: Advances in genetic and agronomic regulation. *Plant Physiology Reports*, 11(3), 67–89. <https://doi.org/10.3390/plants12203646>
- Hoch, E. (2024). 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. (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 ¹H-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, RD. (2009). The effect of cutting length on the rooting and growth of subtropical *Eucalyptus* hybrid clones in South Africa. *Southern Forests*. 71(4): 297–301. <https://doi.org/10.2989/SF.2009.71.4.7.1034>
- Xu, W. (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>