

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Respostas fotossintéticas, metabólicas e produtivas de cannabis medicinal
(*Cannabis sativa* L.) sob déficit hídrico**

Mateus Miranda Pena
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

MATEUS MIRANDA PENA

**Respostas fotossintéticas, metabólicas e produtivas de cannabis medicinal
(*Cannabis sativa* L.) sob déficit hídrico**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Fabio Murilo da Matta

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

P397r
2025
Pena, Mateus Miranda, 1996-
Respostas fotossintéticas, metabólicas e produtivas de
cannabis medicinal (*Cannabis sativa* L.) sob déficit hídrico /
Mateus Miranda Pena. – Viçosa, MG, 2025.
1 dissertação eletrônica (38 f.): il.

Orientador: Fábio Murilo DaMatta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Vegetal, 2025.

Referências bibliográficas: f. 31-38.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.032>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Cânhamo - Fisiologia. 2. Cânhamo - Resistência à seca -
Aspectos genéticos. 3. Canabinóides. I. DaMatta, Fábio Murilo,
1966-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Biologia Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia
Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 583.451722

MATEUS MIRANDA PENA

**Respostas fotossintéticas, metabólicas e produtivas de cannabis medicinal
(*Cannabis sativa* L.) sob déficit hídrico**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 6 de agosto de 2025.

Assentimento:

Mateus Miranda Pena
Autor

Fabio Murilo da Matta
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 04/02/2026 às 15:58:14 e pelo orientador em 05/02/2026 às 15:14:20. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **2BS9.F9LA.OMAN** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

Às forças do universo, que permitiram a minha existência neste planeta.

À minha falecida avó, Ana, por todo amor e cuidado durante minha formação como pessoa, sem ela nada disso teria sido possível.

À minha mãe e meu tio, Cláudia e Evandro, por todo apoio incondicional desde sempre.

À minha irmã, Karla, pelas experiências compartilhadas.

Aos meus amigos de Muriaé e aos que fiz na UFV, com quem aprendo constantemente.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Fábio Murilo DaMatta, por todo apoio e compreensão.

Ao meu colega de laboratório, Felipe, pela ajuda essencial para a conclusão desta dissertação em tempo hábil.

Aos estagiários do laboratório, Thiago e Gustavo, por todo auxílio durante o experimento.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realizar o mestrado e por todo amparo estrutural.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pelo apoio financeiro e concessão da bolsa.

À ADWA Cannabis, em especial ao meu amigo Sérgio, pela parceria ao ter fornecido o material vegetal e amparo estrutural para realização da minha pesquisa.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

PENA, Mateus Miranda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2025. **Respostas fotossintéticas, metabólicas e produtivas de cannabis medicinal (*Cannabis sativa* L.) sob déficit hídrico.** Orientador: Fabio Murilo da Matta.

A seca é uma das principais limitações para a produtividade e o rendimento de canabinoides em *Cannabis sativa*, mas os mecanismos fisiológicos que explicam a variação genotípica nas respostas à seca ainda são pouco compreendidos. Hipotetizou-se que (i) genótipos mais vigorosos manteriam taxas fotossintéticas mais elevadas; (ii) a seca restringiria a fotossíntese tanto por limitações difusionais quanto não difusionais; e (iii) o déficit hídrico alteraria a produção de canabinoides de forma dependente do genótipo. Para testar essas hipóteses, dois genótipos contrastantes — um dominante em tetrahydrocannabinol (THC) e outro dominante em canabidiol (CBD) — foram cultivados em vasos sob condições de casa de vegetação, com a imposição de déficit hídrico no início da floração. As relações hídricas foliares permaneceram estáveis entre genótipos e tratamentos, indicando que os parâmetros hidráulicos não explicaram as diferenças de desempenho dos genótipos. Embora as plantas CBD tenham se mostrado mais vigorosas, elas não apresentaram maiores taxas fotossintéticas sob boa disponibilidade de água. Sob seca, as plantas THC dependeram principalmente da regulação estomática, enquanto as plantas CBD exibiram limitações adicionais no mesófilo e no metabolismo bioquímico, resultando em reduções mais acentuadas na taxa de fotossíntese. Apesar dos ajustes fotoprotetores contrastantes, ambos os genótipos apresentaram níveis semelhantes de dano oxidativo, sugerindo que a fotoproteção não foi um fator decisivo para sua divergência fisiológica. Em nível agrônômico, as plantas THC mantiveram maior índice de colheita sob seca, maiores concentrações basais de canabinoides e biomassa de inflorescências com maior valor energético. Já nas plantas CBD, as reduções no conteúdo de canabinoides e no índice de colheita induzidas pela seca refletiram, em grande parte, uma maior limitação fotossintética e menor eficiência no uso de carbono. De modo geral, a resiliência de *C. sativa* à seca imposta no início da floração parece depender menos da estabilidade hidráulica e mais da manutenção do desempenho fotossintético, do metabolismo secundário e da partição eficiente de biomassa. Essas características representam alvos importantes para o melhoramento de genótipos mais adaptados ao cultivo sob disponibilidade hídrica cada vez mais variável.

Palavras-chave: alocação de carbono; déficit hídrico; índice de colheita; performance fotossintética; rendimento de canabinoides.

ABSTRACT

PENA, Mateus Miranda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2025. **Photosynthetic, metabolic and productive responses of medical cannabis (*Cannabis sativa* L.) under water deficit.** Adviser: Fabio Murilo da Matta.

Drought is one of the main constraints on productivity and cannabinoid yield in *Cannabis sativa*, yet the physiological mechanisms underlying genotypic variation in drought responses remain poorly understood. We hypothesized that (i) more vigorous genotypes would maintain higher photosynthetic rates; (ii) drought would restrict photosynthesis through both diffusional and non-diffusional limitations; and (iii) water deficit would alter cannabinoid production in a genotype-dependent manner. To test these hypotheses, two contrasting genotypes—one tetrahydrocannabinol (THC)-dominant and the other cannabidiol (CBD)-dominant—were grown in pots under greenhouse conditions, with water deficit imposed at the onset of flowering. Leaf water relations remained stable across genotypes and treatments, indicating that hydraulic parameters did not explain genotypic differences in performance. Although CBD plants were more vigorous, they did not exhibit higher photosynthetic rates under well-watered conditions. Under drought, THC plants relied primarily on stomatal regulation, whereas CBD plants showed additional mesophyll and biochemical limitations, resulting in more pronounced reductions in photosynthesis. Despite contrasting photoprotective adjustments, both genotypes exhibited similar levels of oxidative damage, suggesting that photoprotection was not the decisive factor underlying their physiological divergence. At the agronomic level, THC plants maintained a higher harvest index under drought, higher basal cannabinoid concentrations, and inflorescence biomass with greater energetic value. In contrast, in CBD plants, drought-induced reductions in cannabinoid content and harvest index largely reflected stronger photosynthetic limitations and lower carbon-use efficiency. Overall, the resilience of *C. sativa* to drought imposed at the onset of flowering appears to depend less on hydraulic stability and more on the maintenance of photosynthetic performance, secondary metabolism, and efficient biomass partitioning. These traits represent important targets for breeding genotypes better adapted to cultivation under increasingly variable water availability.

Keywords: cannabinoid yield; carbon allocation; drought stress; harvest index; photosynthetic performance

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Potencial hídrico na antemanhã (Ψ_{am}) (A) e potencial hídrico ao meio-dia (Ψ_{md}) (B) em dois genótipos de Cannabis, cultivados sob plena irrigação ou seca (50 e 30% da CC).....18
- Figura 2:** Taxa de assimilação líquida do carbono (A) (A), condutância estomática (g_s) (B), taxa de transpiração (E) (C), concentração interna de dióxido de carbono (C_i) (D), taxa de transporte de elétrons (TTE) (E), velocidade máxima de carboxilação da RuBisCO considerando a concentração cloroplastídica de CO_2 ponto único (V_{cmax}) (F), razão entre a taxa de transporte de elétrons e a taxa fotossintética (TTE/ A) (G), razão entre fotorrespiração e fotossíntese bruta (R_p/A_B) (H) em dois genótipos de Cannabis sob irrigação e seca (50 e 30% da CC).....20
- Figura 3:** Concentrações de canabidiol (CBD) (A), Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) (B), canabigerol (CBG) (C) e canabinoides totais (THC + CBD + CBG) (D) em dois genótipos de Cannabis sob irrigação e seca (30% da CC).....24
- Figura 4:** Biomassa total (A), biomassa do caule (B), biomassa foliar (C), área foliar (D), biomassa das inflorescências (E) e índice de colheita (IC) (F) em dois genótipos de Cannabis sob irrigação e seca.....25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Potencial osmótico em turgescência plena ($\Psi\pi_{(100)}$) e no ponto de perda de turgescência ($\Psi\pi_{(0)}$), módulo global elasticidade (ϵ), capacitância foliar em turgescência plena ($C_{(100)}$) e no ponto de perda de turgescência ($C_{(0)}$) em dois genótipos de Cannabis sob irrigação e seca (30% da CC).....19

Tabela 2: Razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima (F_v/F_m), fluorescência inicial (F_o), *quenching* fotoquímico ajustado (q_L) e coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) e a taxa de transporte de elétrons em dois genótipos de Cannabis sob irrigação e seca (30% da CC).....21

Tabela 3: Atividades de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidases (POX,) e concentração de malondialdeído (MDA) em dois genótipos de Cannabis sob irrigação e seca (30% da CC).....22

Tabela 4: Concentrações de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofila *a+b* (Chl *a+b*), razão clorofila *a*/clorofila *b* (Chl *a/b*), concentrações de carotenoides, glicose, frutose, sacarose, amido, aminoácidos, fenóis totais e prolina em dois genótipos de Cannabis sob irrigação e seca (30% da CC).....23

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
2.1. <i>Material vegetal, delineamento experimental e condução das análises.....</i>	13
2.2. <i>Potencial hídrico e curvas pressão volume.....</i>	14
2.3. <i>Crescimento vegetativo.....</i>	15
2.4. <i>Análises de trocas gasosas e fluorescência da clorofila a.....</i>	15
2.5. <i>Análises bioquímicas e de canabinoides.....</i>	16
2.6. <i>Análises estatísticas.....</i>	17
3. RESULTADOS.....	18
4. DISCUSSÃO.....	26
5. CONCLUSÕES.....	30
6. REFERÊNCIAS.....	31

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Cannabis* sp. teve, possivelmente, seu centro de origem na Ásia Central e possui diversos centros de diversidade estando atrelado, tradicionalmente, a várias culturas ao redor do mundo (Balant *et al.*, 2021). Apesar das divergências quanto à classificação, é considerado um gênero monoespecífico, contendo apenas *Cannabis sativa* L., de onde derivam subespécies como *C. sativa* subsp. *sativa* e *C. sativa* subsp. *indica*, além de variedades (e.g., *C. sativa* subsp. *sativa* var. *ruderalis* e *C. sativa* subsp. *indica* var. *kafiristanica*), que foram melhoradas de forma a compor parte das cultivares usadas atualmente (Pollio, 2016). Historicamente cultivada em latitudes temperadas, trata-se de uma das plantas mais antigas já domesticadas pelo ser humano que, ao longo dos séculos, durante sua dispersão pelo globo terrestre, adaptou-se ao cultivo nas mais diversas condições edafoclimáticas (Clarke & Merlin, 2016; Small, 2015).

Considerada uma planta anual, geralmente dióica, com baixa ocorrência de monoiccia e raro hermafroditismo, a transição entre a fase vegetativa e reprodutiva da *Cannabis* pode ser facilmente modulável pela qualidade e intensidade lumínica, com impactos diretos no conteúdo de canabinoides e terpenoides, mesmo em plantas denominadas de dia neutro ou “automáticas” que florescem independentemente do fotoperíodo, prevalecendo o parâmetro cronológico para tal (ElSohly *et al.*, 2014; Reichel *et al.*, 2022). Estudos recentes indicam que as condições de cultivo desde o plantio de sementes e/ou clones até a colheita afetam o perfil químico das plantas. Tanto a genética utilizada quanto as práticas pós-colheita (secagem, cura, armazenamento das inflorescências e extração dos componentes químicos) também exercem grande influência na qualidade do produto final (Potter, 2014). As diferentes cultivares tendem a preservar uma relação Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC)/canabidiol (CBD) constante em plantas ditas “masculinas” e “femininas” durante as fases vegetativa e de floração. No entanto, plantas com inflorescências pistiladas (fêmeas) possuem maior conteúdo de terpenos e fitocanabinoides, visto que há maior concentração de tricomas glandulares em suas partes florais (Fetterman *et al.*, 1971). Em cultivos denominados *indoor* (em ambiente controlado), outros fatores, como temperatura, umidade, ventilação, fotoperíodo (incluindo a qualidade e intensidade do suprimento de luz artificial) também são levados em consideração no cultivo visando à padronização na obtenção de compostos para fins medicinais (Jin *et al.*, 2019).

Espera-se que o efeito decorrente do aumento da liberação de gases de efeito estufa resultante da queima de combustíveis fósseis para a atmosfera leve a um aumento na temperatura, cujo a principal causa é o aumento na concentração de dióxido de carbono (CO₂). Projeções têm mostrado que a extensão do aumento da concentração de CO₂ atmosférico (C_a), atualmente em torno de 430 ppm, ultrapasse 800 ppm até o fim do século (IPCC, 2023). É possível dizer que a mudança nos padrões de precipitação, a redução na disponibilidade de água, seca, alagamento e ocorrência de eventos climáticos extremos em geral, além de consequências para a biodiversidade, já se configuram como um problema alarmante em muitas regiões (Malhi *et al.*, 2021; Farooq *et al.*, 2023). Porém, locais com boa disponibilidade hídrica têm potencial para ganhos maiores em produtividade das culturas (Walters, 2005; Dusenge *et al.*, 2018). Esse efeito pode ser diminuído, em teoria, entre espécies com mecanismos concentradores de CO₂, como as de metabolismo C4 a depender das condições dos demais fatores (Iñiguez *et al.*, 2020).

Por ser um estresse multidimensional, a seca vem geralmente acompanhada de elevadas temperaturas. Com o aumento da temperatura, também há a expansão dos gases gerando alto déficit de pressão de vapor (DPV). A transpiração pode ser entendida como a diferença entre a concentração de vapor de água nos espaços intercelulares nas folhas e a concentração de vapor d'água na atmosfera (também denominada de diferença absoluta de pressão de vapor) dividida pelas resistências exercidas pela folha (através dos espaços intercelulares, cutícula ou estômato) e pelo ar com a camada limítrofe. Além disso, a diferença entre a temperatura da superfície foliar e a temperatura do ar também assume controle sobre o processo transpiratório. Em cenários climáticos extremos, como exemplo os de seca e elevada temperatura, existe um impacto negativo no processo fotossintético uma vez que influenciam diretamente na velocidade de carboxilação (V_{cmax}), assim, comprometendo a fotossíntese líquida (Harley *et al.*, 1992). Como parte das respostas à seca, as plantas têm menor conteúdo de água para expansão celular e acabam por diminuir a área foliar total como estratégia para evitar transpiração excessiva e, por ventura, elevar a perda de calor sensível para dissipar excesso de energia (Chaves *et al.*, 2003). Com isso, as taxas de fotorrespiração (R_p) aumentam de maneira a recuperar parte dos precursores de hexoses (principalmente glicose e frutose) que possibilitam a regulação de seu metabolismo, além de proteger estruturas celulares realizando a conversão de EROs com menor toxicidade (e.g., Ciclo C2 e Reação de Mehler, respectivamente) (Sunil *et al.*, 2018).

Além do mencionado acima, as plantas também realizam ajuste osmótico e elástico como forma de enfrentamento a períodos de seca (Turner & Jones, 1980; Blum, 2017). O ajustamento osmótico pode ser entendido como o acúmulo ativo de solutos no interior das células, fazendo com que haja regulação do gradiente eletroquímico e diminuição do potencial osmótico (Ψ_s) celular, com vistas à manutenção da absorção e/ou retenção de água na planta, e assim auxiliando na manutenção da turgescência, mesmo em situações de limitação hídrica (baixo potencial hídrico (Ψ_w)) (Barker *et al.*, 1993). Alguns compostos químicos podem ser listados como: açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e outros, que, após o estresse, podem ser respirados (catabolizados), causando, em alguns casos, o efeito denominado crescimento compensatório (Barker *et al.*, 1993; Zhou *et al.*, 2022).

O ajustamento elástico pode ser atingido modificando-se as propriedades da parede celular, de maneira a deixá-la mais flexível ou rígida, com alteração no módulo de elasticidade (ϵ), retardando ou acelerando a plasmólise incipiente (Savé *et al.*, 1995; Marshall & Dumbroff, 1999). O valor de ϵ é dado pela fórmula $\epsilon = \Delta\Psi_p/\Delta V$, em que menores valores de ϵ se traduzem em paredes celulares menos rígidas, ou seja, com baixa variação no potencial de pressão (Ψ_p) para uma grande variação de volume (V) (Nadal *et al.*, 2018). Por outro lado, valores maiores de ϵ indicam pequena variação em V para alta variação em Ψ_p , uma vez que exibem paredes celulares mais rígidas. Relatos na literatura indicam uma relação inversa entre ϵ e condutância mesofílica (g_m), visto que folhas com estruturas mais firmes oferecem maiores resistências difusionais, implicando em menor fotossíntese líquida (A) (Onoda *et al.*, 2017). Diferentemente do ajustamento osmótico, que pode ocorrer de forma relativamente rápida, mudanças nas propriedades da parede celular ocorrem de forma mais lenta, sendo percebidas em folhas formadas após a imposição do déficit hídrico. Esses parâmetros ($\Psi\pi$ e Ψ_p) explicam parcialmente o potencial de tolerância das plantas frente a diferentes condições de disponibilidade hídrica, de forma a influenciar diretamente no estabelecimento de um gradiente de potencial hídrico com vistas à absorção e/ou retenção de água (Woolfenden *et al.*, 2018).

Como o cultivo de *Cannabis* requer relativamente poucos insumos agrícolas, a espécie pode ser adequada para produção sob disponibilidade reduzida de água, mesmo quando a produtividade é parcialmente comprometida, como relatado para o cânhamo industrial (Cosentino *et al.*, 2013). Estudos com cânhamo floral submetido a seca extrema (~10% da capacidade de campo (CC)) revelaram impactos negativos no rendimento de canabinoides (em específico, o CBD) após o estabelecimento da fase de floração. Não obstante, níveis moderados

de déficit (~50% da CC) não acarretaram variações significativas no conteúdo dos canabinoides, indicando que existe um limiar para a redução da lâmina d'água sem prejuízos à produção e aumentando a eficiência agrônômica de uso da água (Morgan *et al.*, 2024).

Compreender como genótipos de *Cannabis* respondem fisiológica e produtivamente ao déficit hídrico é, portanto, fundamental, especialmente à luz do aumento projetado na frequência e severidade das secas sob as mudanças climáticas (Gebrechorkos *et al.*, 2025). Com isso, hipotetiza-se que (i) genótipos mais vigorosos, caracterizados por maior acúmulo de biomassa, também manteriam taxas fotossintéticas mais elevadas; (ii) a seca restringiria a fotossíntese por meio de limitações tanto difusionais quanto não difusionais, com diferenças genótípicas em sua contribuição relativa; e (iii) o déficit hídrico alteraria a produção dos principais canabinoides (CBD e THC) de maneira dependente do genótipo, refletindo variações no desempenho fotossintético e no estado hídrico. Para testar essas hipóteses, comparou-se dois genótipos contrastantes de *Cannabis*, que diferem em crescimento e perfil de canabinoides, avaliando suas relações hídricas e respostas fotossintéticas, metabólicas e produtivas sob regimes contrastantes de disponibilidade de água.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material vegetal, delineamento experimental e condução das análises

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'14"S, 42°52'53"W; 650 m de altitude), região sudeste do Brasil. Foram utilizados dois genótipos (clones) de *Cannabis sativa* (fornecidos pela ADWA Cannabis Pesquisa e Desenvolvimento LTDA) adaptados a dias curtos, que diferem quanto ao hábito de crescimento e à capacidade de produzir os principais canabinoides: um acumulando predominantemente THC e apresentando menor biomassa (doravante denominado genótipo THC), e o outro acumulando CBD com maior produção de biomassa (genótipo CBD). Após o enraizamento bem-sucedido em uma câmara de nebulização controlada, 32 mudas uniformes (16 por genótipo) foram transplantadas para vasos de 10 L preenchidos com substrato comercial (Mecplant®). As plantas foram mantidas em casa de vegetação sob temperatura, umidade relativa e densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) que variaram naturalmente. Para manter o crescimento vegetativo, o DFFF foi inicialmente suplementado por aproximadamente 4 horas por dia com lâmpadas de LED de 50 W, estendendo o fotoperíodo para cerca de 16 horas. As plantas foram espaçadas a 50 cm dentro

das fileiras e 75 cm entre fileiras, sendo adubadas semanalmente com uma solução nutritiva comercial (DuGreen®), conforme as recomendações do fabricante.

Quando as plantas atingiram aproximadamente 1 m de altura (40 dias após o transplante), as lâmpadas de LED foram desligadas para induzir a floração, que ocorreu de forma uniforme em cada genótipo. Até o início da floração, as plantas foram irrigadas de modo a manter a umidade do substrato próxima à capacidade de campo (CC). Para isso, foi estabelecida uma curva de retenção de água do substrato (Cavatte et al., 2012) a fim de determinar tanto a CC quanto o ponto de murcha permanente, permitindo o controle preciso da aplicação de água.

Após o início da floração (46 dias após o transplante), metade das plantas de cada genótipo continuou a ser irrigada na CC, enquanto as demais foram submetidas a uma redução gradual na disponibilidade de água para 75, 50, 40 e 30% da CC, mantendo-se cada nível de umidade por 5 dias. Durante a imposição do déficit hídrico, a superfície do solo de cada vaso foi coberta com filme plástico para minimizar a perda de água por evaporação. As medições fisiológicas e as amostragens para análises bioquímicas subsequentes (ver abaixo) foram realizadas nas plantas sob estresse no quarto ou quinto dia após a irrigação correspondente a 50 e 30% da CC. Salvo indicado em contrário, as medições foram feitas nas folhas mais jovens completamente expandidas.

2.2 Potencial hídrico e curvas pressão-volume

O Ψ_w foliar foi obtido em cada nível de déficit (50% e 30% da CC) na antemãnhã (Ψ_{am}) e ao meio-dia (Ψ_{md}) com o uso de uma câmara de pressão de Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, USA). Para obterem-se curvas pressão-volume, foram coletadas folhas totalmente expandidas, alocadas em sacos plásticos com fecho (do tipo *ziplock*) juntamente com um chumaço de algodão molhado para manter a atmosfera saturada de umidade, e levadas ao laboratório (100 m de distância). Em sequência, as folhas tiveram seus pecíolos imersos em água dentro de uma câmara dessecadora de vidro, por 12 horas, de forma a atingirem reidratação plena. Foram então registrados a massa (usando uma balança com precisão de 0,1 mg) e o Ψ_w (com a câmara de Scholander supramencionada) ao longo de um ciclo natural de desidratação foliar, até que as folhas atingissem um Ψ_w de cerca de -2,5 MPa, após o que as folhas foram secas em estufa até massa constante, a 60 °C. As curvas pressão-

volume foram construídas a partir do conteúdo relativo de água e do inverso do Ψ_w . A partir das curvas pressão-volume, foram calculados os valores de potencial osmótico das folhas tanto em condições de turgescência máxima ($\Psi\pi_{(100)}$) quanto no ponto de perda de turgescência ($\Psi\pi_{(0)}$), capacitância foliar em turgescência máxima ($C_{(100)}$) e mínima ($C_{(0)}$) e o módulo global de elasticidade (ϵ) (Blackman e Brodribb, 2011).

2.3 Análises de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

As trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a* foram medidas simultaneamente utilizando um sistema portátil de fotossíntese (LI-6400XT; LI-COR, Lincoln, NE, EUA) equipado com uma câmara de fluorescência integrada (LI-6400-40). A taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), a condutância estomática (g_s), a taxa de transpiração (E) e a concentração interna de CO₂ (C_i) foram registradas entre 09h00 e 11h00 (hora solar), sob DFFF de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de 28 °C e concentração ambiente de CO₂ de 430 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, conforme DaMatta et al. (2016).

As amostras foliares foram inicialmente adaptadas ao escuro por 2 horas, após o que foram expostas a um feixe modulador fraco (0,03 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para determinar o nível mínimo de fluorescência (F_o). A fluorescência máxima (F_m) foi então obtida pela aplicação de um pulso saturante de luz branca (8000 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 0,8 s). A partir desses valores, a eficiência quântica máxima da fotossíntese no fotossistema II (PSII) foi calculada como $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$.

Em tecidos aclimatados à luz (1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a fluorescência em estado estacionário (F_s) foi medida imediatamente antes da aplicação de outro pulso saturante (8000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 0,8 s), o que forneceu a fluorescência máxima sob luz (F_m'). Em seguida, a iluminação actínica foi desligada e um feixe de luz vermelha distante (2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi aplicado para obter a fluorescência mínima em folhas aclimatadas à luz (F_o'). Esses parâmetros foram então usados para estimar diversas características fotossintéticas: o coeficiente de extinção fotoquímica ajustado ($q_L = [(F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')] \times (F_o'/F_s)$), o coeficiente de extinção não fotoquímica ($\text{NPQ} = (F_m - F_m')/F_m'$) e o rendimento quântico efetivo do PSII ($\Phi_{\text{FSII}} = (F_m' - F_s)/F_m'$) (Kramer et al., 2004). A taxa de transporte de elétrons (TTE) foi posteriormente derivada como $\Phi_{\text{FSII}} \times \text{PPFD} \times f \times \alpha$, em que f representa a partição assumida de 0,5 da energia

de excitação entre os fotossistemas I e II, e α corresponde à absorvância foliar (fixada em 0,84) dos tecidos fotossintéticos (Maxwell e Johnson, 2000).

A respiração mitocondrial noturna (R_n) foi medida 2 horas após o início do período escuro e posteriormente utilizada para estimar a respiração à luz (R_d) segundo o modelo de Lloyd et al. (1995), em que $R_d = (0,5 - 0,05 \ln(\text{PPFD})) \times R_n$. A taxa de fotorrespiração da RuBisCO (R_p) foi então obtida de acordo com Valentini et al. (1995), usando a equação $R_p = 1/12 [\text{TTE} - 4(A + R_d)]$, e a razão entre fotorrespiração e fotossíntese bruta (R_p/A_B) foi calculada conforme descrito por DaMatta et al. (2016).

A capacidade aparente máxima de carboxilação da RuBisCO (V_{cmax}) em ponto único, baseada na concentração de CO_2 no cloroplasto, foi estimada segundo o método de De Kauwe et al. (2016), aplicando as propriedades cinéticas da RuBisCO do tabaco ($K_c = 8,6 \mu\text{M}$; $K_o = 226 \mu\text{M}$; von Caemmerer et al., 1994), juntamente com as medições simultâneas matinais de A e TTE, quando ambos os parâmetros normalmente atingem seus valores máximos. Por fim, os valores de V_{cmax} foram padronizados para $25 \text{ }^\circ\text{C}$ seguindo o procedimento de correção de temperatura proposto por Sharkey et al. (2007).

2.4 Análises bioquímicas e de canabinoides

Amostras foliares coletadas ao meio-dia foram rapidamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ até a realização das análises bioquímicas. Posteriormente, os tecidos foram liofilizados a $-48 \text{ }^\circ\text{C}$ e macerados com esferas metálicas em um homogeneizador Mini Bead Beater. Para a quantificação dos metabólitos primários, alíquotas de 10 mg foram extraídas em metanol (Lisec et al., 2006).

A fração solúvel foi utilizada para determinar os pigmentos fotossintéticos (Bender-Machado et al., 2004), hexoses e sacarose (Ferne et al., 2001), aminoácidos totais (Yemm et al., 1955), fenóis totais (Bialeski & Turner, 1966) e prolina (Carillo e Gibon, 2011), enquanto a fração insolúvel foi analisada quanto ao teor total de proteínas (Bradford, 1976) e amido (Lisec et al., 2006; Praxedes et al., 2006).

Para os marcadores de estresse oxidativo, 30 mg de tecido liofilizado foram extraídos com etanol 80% (v/v) e posteriormente divididos em dois tubos. Em um deles foi adicionado ácido tricloroacético (TCA) a 20% (p/v), enquanto o outro recebeu TCA a 20% (p/v) em combinação com ácido tiobarbitúrico a 0,65% (p/v). O malondialdeído (MDA) foi quantificado

na fração solúvel como um indicador de peroxidação lipídica, conforme Hodges et al. (1999), com correções propostas por Landi (2017).

Alíquotas adicionais de 20 mg foram extraídas segundo Peixoto et al. (1999) para determinação das atividades de superóxido dismutase (*SOD*; EC 1.15.1.1) (Giannopolitis e Ries, 1977), catalase (*CAT*; EC 1.11.1.6) (Havir e McHale, 1987) e peroxidases totais (*POX*; EC 1.11.1.7) (Kwak et al., 1996). O teor de proteínas dos extratos enzimáticos foi determinado pelo método de Bradford (Bradford, 1976), utilizando albumina de soro bovino como padrão, e as atividades específicas das enzimas foram expressas com base no teor proteico.

Os principais canabinoides (CBD, THC e CBG – canabigerol) foram quantificados utilizando um espectrômetro portátil de infravermelho próximo com transformada de Fourier (FT-NIR, Valenveras Portable Lab, NeoSpectra, Barcelona, Espanha), operando na faixa de 1.350–2.500 nm. As análises foram realizadas em inflorescências secas em estufa e moídas, seguindo protocolos validados para perfis de canabinoides baseados em NIR (Jarén et al., 2022; Rafiq et al., 2024). De acordo com o fabricante, os modelos preditivos apresentaram coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,90 e erros comparáveis aos obtidos em ensaios convencionais feitos em HPLC. A concentração total de canabinoides foi calculada como a soma de CBD, THC e CBG.

2.5 Crescimento vegetativo

Ao final do experimento, os tecidos da parte aérea foram separados em folhas, caules e inflorescências, os quais foram secos em estufa a 70 °C por 72 horas para determinação da massa seca. As folhas senescentes — geralmente ainda presas aos caules, mas que se destacavam facilmente ao manusearem-se as plantas — foram coletadas e sua massa adicionada à massa seca total das folhas. A altura das plantas e o diâmetro do caule foram medidos com régua e paquímetro digital, respectivamente.

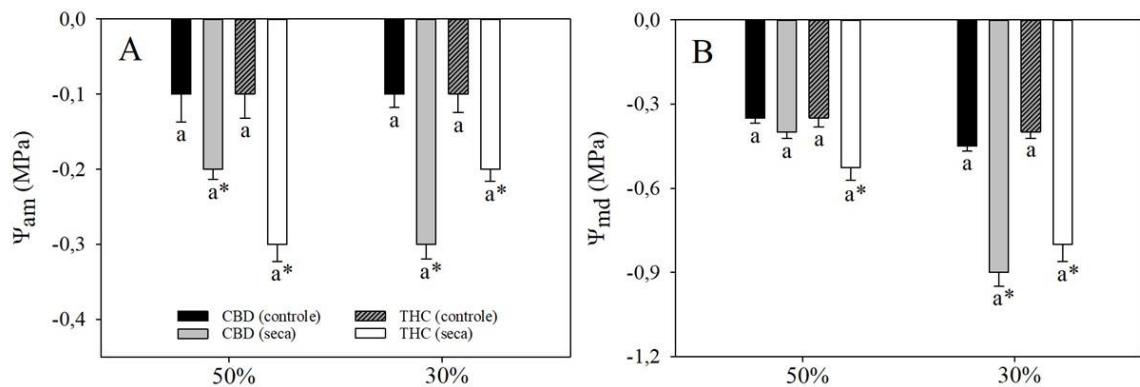
As raízes foram excluídas da análise devido à dificuldade de separá-las do substrato e às perdas inevitáveis durante a lavagem. Para cada planta, duas folhas representativas foram escaneadas antes da secagem para estimar-se a área foliar específica (AFE). A área foliar total foi então calculada multiplicando-se a AFE pela biomassa total das folhas. O índice de colheita (IC) foi calculado como a razão entre a biomassa das inflorescências e a biomassa total da parte aérea, seguindo os procedimentos padrão utilizados para culturas de campo.

2.6 Análises estatísticas

O estudo foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2×2 , com dois genótipos e dois regimes hídricos. Cada tratamento incluiu oito repetições, sendo cada vaso considerado uma unidade experimental. Antes das análises, os dados foram verificados quanto à normalidade e à homogeneidade das variâncias, e posteriormente submetidos à ANOVA a $P \leq 0,05$, utilizando o software R.

3. RESULTADOS

Conforme esperado, tanto Ψ_{am} como Ψ_{md} decresceram em resposta à seca (exceto Ψ_{md} em CBD sob 50% da capacidade de campo (CC) – seca leve). Registre-se que os valores de Ψ_{am} pouco ou nada variaram, na medida em que a disponibilidade hídrica decresceu de 50 para 30% da CC (seca mais severa), ao contrário do observado em Ψ_{md} , que decresceu de cerca de -0,4/-0,5 MPa para cerca de -0,8 MPa em ambos os genótipos. Registre-se ainda que tanto Ψ_{am} como Ψ_{md} não diferiram entre os genótipos sob umidade equivalente a 30% da CC



(Figura 1).

Figura 1: (A) Potencial hídrico ao amanhecer (Ψ_{pd}) e (B) potencial hídrico ao meio-dia (Ψ_{md}) em dois genótipos de Cannabis cultivados em condições bem irrigadas ou sob seca. Para as plantas sob seca, as medições foram feitas a 50% e 30% da capacidade de campo. Os valores representam médias \pm erro padrão ($n = 8$). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre genótipos dentro do mesmo regime hídrico; asteriscos, quando presentes, indicam efeito da seca dentro de um genótipo (teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

A partir das curvas pressão–volume, $\Psi\pi_{(100)}$, $\Psi\pi_{(0)}$ e ε foram essencialmente semelhantes entre os genótipos e não foram afetados pelos tratamentos (Tabela 1). Em relação à capacitância hidráulica foliar, $C_{(100)}$ manteve-se estável entre os tratamentos, enquanto $C_{(0)}$ nas plantas do genótipo THC apresentou uma redução de 50% sob déficit hídrico em comparação aos valores do controle (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros de curvas pressão–volume: potencial osmótico a plena turgescência ($\Psi\pi_{(100)}$) e no ponto de perda de turgor ($\Psi\pi_{(0)}$), módulo de elasticidade (ε) e capacitância foliar a plena turgescência ($C_{(100)}$) e no ponto de perda de turgor ($C_{(0)}$) em dois genótipos de *Cannabis* cultivados em condições irrigadas ou sob seca. Os valores representam médias \pm erro padrão ($n = 8$). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre genótipos dentro do mesmo regime hídrico; asteriscos, quando presentes, indicam efeito da seca dentro de um genótipo (teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

Parâmetros	CBD		THC	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit
$\Psi\pi_{(100)}$ (MPa)	$-0,73 \pm 0,12a$	$-0,62 \pm 0,06a$	$-1,08 \pm 0,17a$	$-0,69 \pm 0,05a$
$\Psi\pi_{(0)}$ (MPa)	$-1,23 \pm 0,19a$	$-1,13 \pm 0,08a$	$-1,50 \pm 0,15a$	$-1,08 \pm 0,06a$
ε (MPa)	$5,77 \pm 1,12a$	$4,49 \pm 0,48a$	$6,75 \pm 1,21a$	$5,82 \pm 0,62a$
$C_{(100)}$ ($\text{mol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$)	$0,09 \pm 0,02a$	$0,11 \pm 0,01a$	$0,09 \pm 0,01a$	$0,09 \pm 0,01a$
$C_{(0)}$ ($\text{mol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$)	$0,11 \pm 0,02b$	$0,11 \pm 0,01a$	$0,22 \pm 0,03a$	$0,11 \pm 0,02a^*$

Sob irrigação plena, os parâmetros de trocas gasosas não diferiram entre os genótipos. Em contraste, o estresse por seca alterou profundamente esses atributos (Figura 2). A 50% da CC, A caiu aproximadamente 40%, acompanhada por reduções acentuadas em g_s (76–81%), C_i (32–48%) e E (~67%) em relação às plantas-controle, independentemente do genótipo (Figura 2A–D). Por outro lado, TTE e V_{cmax} permaneceram inalteradas (Figura 2E–F), enquanto as razões TTE/ A e R_p/A_B quase dobraram sob seca em ambos os genótipos (Figura 2G–H).

A 30% da CC, as reduções em A e g_s tornaram-se ainda mais pronunciadas, especialmente no genótipo CBD, atingindo cerca de ~20% e 6%, respectivamente, dos valores observados nas plantas irrigadas (no genótipo THC, os valores correspondentes foram de 44% e 20%, conforme indicado na Fig. 2A–B). Entretanto, em THC, A não apresentou redução adicional em relação a 50% da CC, enquanto E foi fortemente diminuída (Fig. 2D). Embora TTE tenha permanecido estável, V_{cmax} reduziu-se em 37% exclusivamente no genótipo CBD

(Fig. 2E–F). Além disso, as razões TTE/A e R_p/A_B atingiram um platô a 30% da CC em plantas THC, mas em CBD foram 242% e 189% maiores, respectivamente, do que nas plantas irrigadas (Fig. 2G–H). Independentemente da severidade do déficit hídrico, A e g_s apresentaram forte correlação positiva ($r \geq 0,79$; $P < 0,05$) em ambos os genótipos.

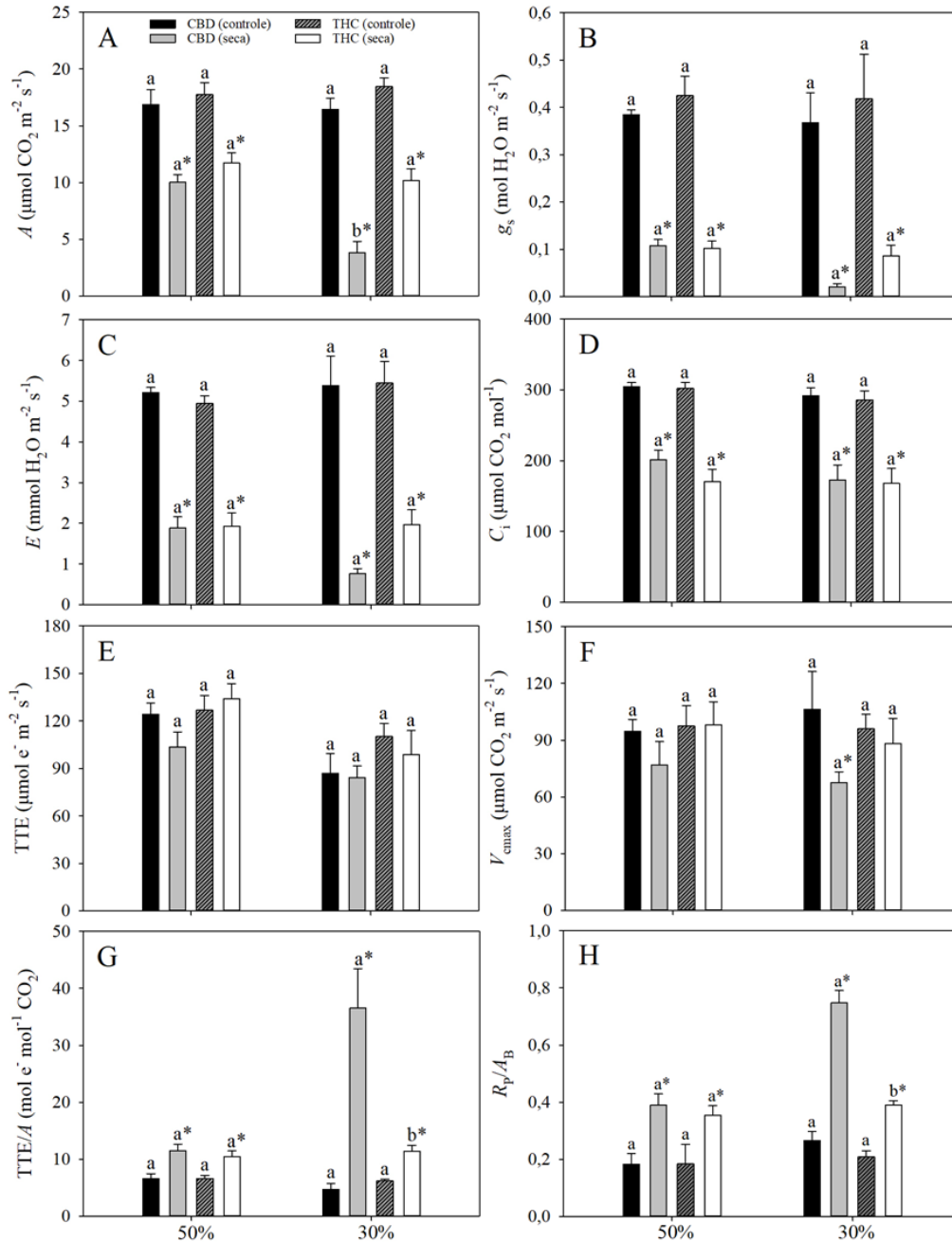


Figura 2: (A) Taxa fotossintética líquida (A), (B) condutância estomática (g_s), (C) concentração interna de CO_2 (C_i), (D) taxa de transpiração (E), (E) taxa de transporte de elétrons (TTE), (F) capacidade máxima de carboxilação em ponto único baseada na concentração de CO_2 no cloroplasto (V_{cmax}), (G)

razão entre a taxa de transporte de elétrons e a fotossíntese (TTE/A) e (H) razão entre fotorrespiração e fotossíntese bruta (R_p/A_B) em dois genótipos de *Cannabis* cultivados em condições bem irrigadas ou sob seca. Para plantas sob seca, as medições foram feitas a 50% e 30% da capacidade de campo. Os valores representam médias \pm erro padrão ($n = 8$). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre genótipos dentro do mesmo regime hídrico; asteriscos, quando presentes, indicam efeito da seca dentro de um genótipo (teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

Também foram avaliados alguns parâmetros de fluorescência da clorofila *a* (apenas a 30% da capacidade de campo) e observaram-se respostas semelhantes à seca em ambos os genótipos (Tabela 2). Nas plantas-controle, os valores de F_v/F_m variaram entre 0,81 e 0,83, mas diminuíram aproximadamente 20% sob estresse hídrico, uma redução acompanhada por aumentos acentuados em F_0 (52–66%). Em contraste, q_L diminuiu significativamente (59–73%) e NPQ reduziu-se entre 36–40%. Ainda assim, os valores absolutos de NPQ foram consistentemente maiores no genótipo THC (81–98%) do que em CBD, independentemente da disponibilidade hídrica (Tabela 2).

Tabela 2: Eficiência quântica máxima da fotoquímica do PSII (F_v/F_m), fluorescência mínima da clorofila (F_0), coeficiente de extinção fotoquímica (q_L) e extinção não-fotoquímica (NPQ) em dois genótipos de *Cannabis* cultivados em condições bem irrigadas ou sob seca. Os valores representam médias \pm erro padrão ($n = 8$). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre genótipos dentro do mesmo regime hídrico; asteriscos, quando presentes, indicam efeito da seca dentro de um genótipo (teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

Parâmetros	CBD		THC	
	Controle	Déficit	Controle	Déficit
F_v/F_m	0,81 \pm 0,01a	0,64 \pm 0,01a*	0,83 \pm 0,01a	0,68 \pm 0,02a*
F_0	626 \pm 18a	950 \pm 72a*	554 \pm 19a	922 \pm 98a*
q_L	0,46 \pm 0,02a	0,19 \pm 0,01a*	0,44 \pm 0,03a	0,12 \pm 0,07a*
NPQ	0,96 \pm 0,1b	0,58 \pm 0,1b*	1,74 \pm 0,3a	1,15 \pm 0,1a*

As atividades das enzimas antioxidantes diminuíram, de modo geral, sob déficit hídrico (Tabela 3). A atividade de SOD reduziu-se em 36% no genótipo CBD e 50% no THC, enquanto a de CAT diminuiu em 30% e 22%, respectivamente. Apesar dessas reduções, ambas as atividades enzimáticas (SOD e CAT) permaneceram mais elevadas no CBD do que no THC,

uma vantagem que se tornou ainda mais evidente sob seca, com atividades 78% (SOD) e 45% (CAT) maiores no CBD. Em contraste, a atividade de POX apresentou uma resposta específica de genótipo: caiu acentuadamente no CBD (58%), mas não foi afetada no THC, resultando em níveis semelhantes entre genótipos sob déficit hídrico. Independentemente dessas diferenças, as concentrações de MDA aumentaram cerca de 23–29% em ambos os genótipos, indicando danos oxidativos comparáveis sob déficit hídrico (Tabela 3).

Tabela 3: Atividades de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidases (POX), e concentração de malondialdeído (MDA) em dois genótipos de *Cannabis* cultivados em condições irrigadas ou sob seca. Os valores representam médias \pm erro padrão ($n = 8$). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre genótipos dentro do mesmo regime hídrico; asteriscos, quando presentes, indicam efeito da seca dentro de um genótipo (teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

Parâmetros	CBD		THC	
	Controle	Seca	Controle	Seca
SOD (U min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína)	26,43 \pm 1,9a	16,73 \pm 1,2a*	19,85 \pm 1,5a	9,23 \pm 0,6b*
CAT (μ mol H ₂ O ₂ min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína)	17,5 \pm 1,3a	14,1 \pm 0,9a*	12,4 \pm 0,7a	8,7 \pm 0,5a*
POX (μ mol purpurogalina min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína)	0,10 \pm 0,01a	0,03 \pm 0,01a*	0,04 \pm 0,01b	0,03 \pm 0,01a
MDA (μ mol g ⁻¹ MS)	0,95 \pm 0,09a	1,24 \pm 0,06a*	1,16 \pm 0,05a	1,50 \pm 0,09a*

As análises metabólicas revelaram mudanças marcantes nos perfis de metabólitos sob déficit hídrico (Tabela 4). A concentração de clorofilas totais (*Chl a + b*) diminuiu em 33% nas plantas CBD e 18% nas THC, resultando em níveis de clorofila 32% maiores nos indivíduos THC sob seca. As concentrações de carotenoides também diminuiriam, em 40% no CBD e 27% no THC. Independentemente do genótipo, a seca induziu reduções significativas em aminoácidos livres (~30%) e em carboidratos, evidenciadas pelas diminuições em glicose (~43%), frutose (~22%), sacarose (~22%) e amido (19% no CBD e 39% no THC). As concentrações de glicose e frutose não diferiram entre genótipos; entretanto, os níveis de sacarose foram consistentemente maiores (12–16%) nas plantas THC do que nas CBD. Por outro lado, as concentrações de amido foram marcadamente menores nas plantas THC — 33% sob irrigação e 42% sob seca — em comparação ao CBD. As concentrações de fenóis totais não foram afetadas pela seca, mas permaneceram ligeiramente maiores no CBD do que no THC. A concentração de prolina não apresentou diferenças genotípicas significativas em

nenhum dos regimes hídricos, embora tenha diminuído em 23% sob seca apenas no THC (Tabela 4).

Tabela 4: Concentrações foliares (por massa seca) de clorofilas, carotenoides, glicose, frutose, sacarose, amido, aminoácidos livres, fenóis e prolina em dois genótipos de *Cannabis* cultivados em condições irrigadas ou sob seca. Os valores representam médias \pm erro padrão ($n = 8$). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre genótipos dentro do mesmo regime hídrico; asteriscos, quando presentes, indicam efeito da seca dentro de um genótipo (teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

Parâmetros	CBD		THC	
	Controle	Seca	Controle	Seca
Chl <i>a+b</i> ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS)	2807 \pm 133a	1759 \pm 131b*	2813 \pm 35a	2320 \pm 77a*
Carotenoides ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS)	735 \pm 20a	437 \pm 33a*	715 \pm 9a	522 \pm 22a*
Glicose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	87 \pm 10a	55 \pm 3a*	84 \pm 6a	55 \pm 4a*
Frutose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	30 \pm 3a	24 \pm 3a*	38 \pm 5a	29 \pm 2a*
Sacarose ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	93 \pm 7b	73 \pm 3b*	107 \pm 2a	82 \pm 2a*
Amido (mmol equiv. glicose g^{-1} MS)	0,95 \pm 0,09a	0,70 \pm 0,06a*	0,65 \pm 0,07b	0,37 \pm 0,07b*
Aminoácidos ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	43 \pm 2a	30 \pm 2a*	44 \pm 1a	32 \pm 2a*
Fenóis totais (mg g^{-1} MS)	113 \pm 3a	102 \pm 6a	89 \pm 2b	91 \pm 4b
Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	9,81 \pm 0,5a	8,69 \pm 0,5a	10,05 \pm 1,0a	7,72 \pm 0,5a*

Como esperado, as concentrações de CBD foram substancialmente maiores no genótipo CBD ($\approx 7\%$) do que no genótipo THC ($\approx 0,3\text{--}0,4\%$). Em contrapartida, o genótipo THC acumulou teores de THC significativamente mais elevados ($16,8\text{--}20,7\%$) do que o genótipo CBD ($0,63\text{--}0,68\%$) (Fig. 3). O déficit hídrico reduziu de forma significativa o conteúdo de canabinoides em ambos os genótipos, diminuindo as concentrações de THC em 7% e 19% e as de CBD em 14% e 25% nos genótipos CBD e THC, respectivamente (Fig. 3A–B). Os níveis totais de CBG foram baixos ($<0,1\%$) nas plantas CBD e permaneceram inalterados sob seca, enquanto nos indivíduos THC foram consistentemente mais altos ($\sim 0,4\text{--}0,5\%$), mas diminuíram em 24% sob déficit hídrico (Fig. 3C). Independentemente do regime hídrico, as plantas THC mantiveram teores totais de canabinoides substancialmente mais altos — aproximadamente 1,7 vezes maiores do que os das plantas CBD (Fig. 3D).

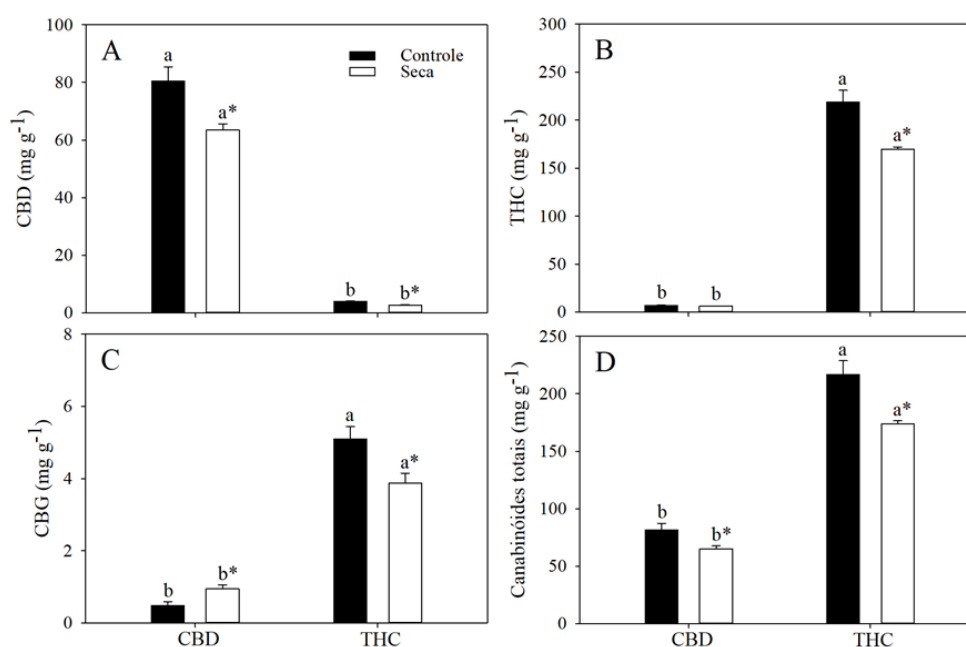


Figura 3: Concentrações foliares (por massa seca) de canabidiol (CBD), tetraidrocanabinol (THC), canabigerol (CBG) e de canabinoides totais em dois genótipos de *Cannabis* cultivados em condições irrigadas ou sob seca. Os valores representam médias \pm erro padrão ($n = 8$). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre genótipos dentro do mesmo regime hídrico; asteriscos, quando presentes, indicam efeito da seca dentro de um genótipo (teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

Em comparação com THC, as plantas CBD irrigadas e sob seca acumularam maior biomassa total (37% e 25% a mais, respectivamente), principalmente devido à maior biomassa

do caule (85% e 94%), enquanto a biomassa foliar foi semelhante entre os genótipos (Figura 4A–C). A maior massa do caule nas plantas CBD esteve associada principalmente ao maior diâmetro do caule (~40%), já que a altura das plantas não diferiu entre genótipos (dados não mostrados). Nenhum desses atributos de crescimento foi significativamente afetado pela disponibilidade hídrica em qualquer dos genótipos. Em contraste, a área foliar total não diferiu entre genótipos, mas reduziu-se aproximadamente 10% sob seca, independentemente do genótipo (Figura 4D). A biomassa das inflorescências foi maior em plantas CBD irrigadas, mas semelhante entre genótipos sob seca; no entanto, a seca reduziu a biomassa das inflorescências em 32% somente nas plantas CBD (Figura 4E). Consequentemente, o índice de colheita (IC) diminuiu 22% nessas plantas em relação ao das plantas irrigadas, embora os valores de IC em plantas CBD irrigadas tenham permanecido comparáveis aos observados em plantas THC sob ambos os regimes hídricos (Figura 4F).

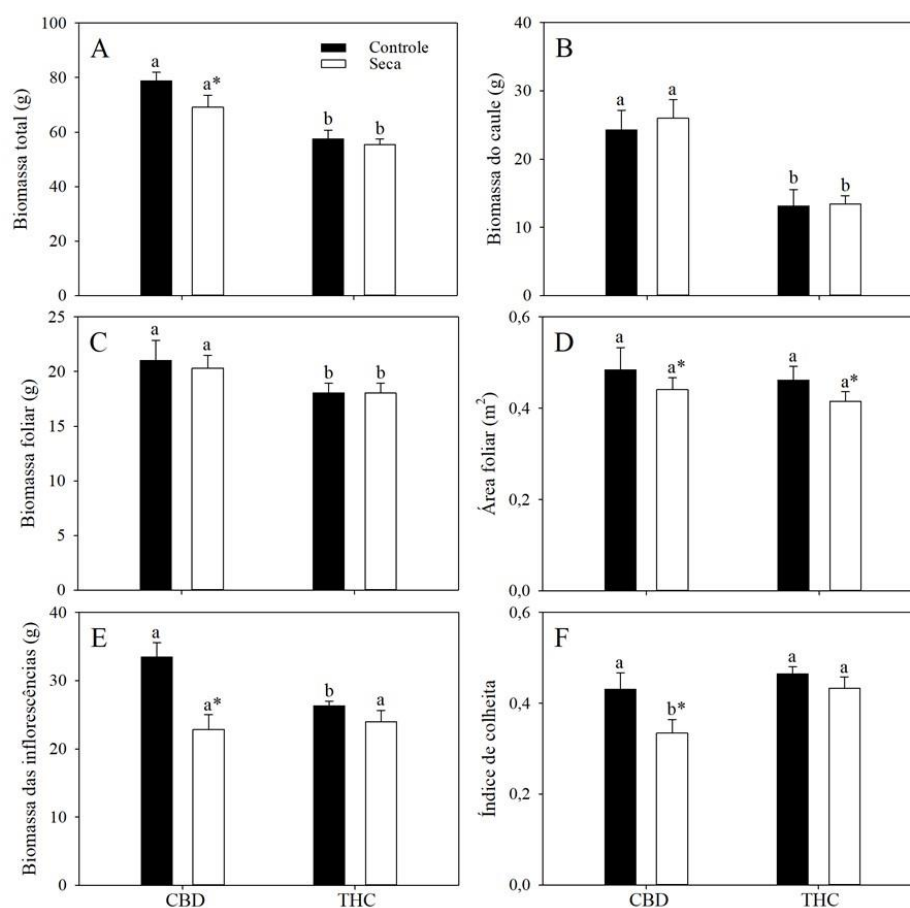


Figura 4: Biomassa total, biomassa do caule, biomassa foliar, área foliar, biomassa das inflorescências e índice de colheita (IC) em dois genótipos de *Cannabis* cultivados em condições irrigadas ou sob seca.

Os valores representam médias \pm erro padrão ($n = 8$). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre genótipos dentro do mesmo regime hídrico; asteriscos, quando presentes, indicam efeito da seca dentro de um genótipo (teste de Tukey, $P \leq 0,05$).

4. DISCUSSÃO

Como esperado, as plantas sob déficit hídrico apresentaram reduções tanto em Ψ_{am} quanto em Ψ_{md} , as quais se tornaram mais pronunciadas à medida que o déficit hídrico se intensificou. As diferenças genotípicas nesses parâmetros foram insignificantes; além disso, não houve evidências de ajuste osmótico (como indicado pela invariância de $\Psi\pi_{(100)}$ e $\Psi\pi_{(0)}$) nem de ajuste elástico, já que ϵ também permaneceu constante independentemente do genótipo (Bartlett et al., 2012; Blum, 2017). Portanto, é improvável que as diferenças entre genótipos em relação à tolerância à seca, no tocante ao desempenho fotossintético, sejam atribuídas às relações hídricas das plantas em si. Importante ressaltar que Ψ_{md} excedeu consistentemente $\Psi\pi_{(0)}$ em $\geq 0,2$ MPa, indicando que as folhas não atingiram o ponto de perda de turgor; assim, os déficits impostos podem ser classificados como moderados (30% CC) e brandos (50% CC). A manutenção de parâmetros das relações hídricas, como ϵ , $\Psi\pi_{(100)}$ e $\Psi\pi_{(0)}$, sugere que as diferenças na capacidade de crescimento não devem ser atribuídas a variações de pressões hidrostáticas e/ou propriedades de elasticidade da parede celular entre genótipos. Em contraste, a capacitância hidráulica revelou um ajuste específico por genótipo: enquanto $C_{(100)}$ permaneceu inalterado, $C_{(0)}$ diminuiu 50% em plantas THC sob seca, em comparação aos controles (Tabela 2). Essa redução pode indicar uma menor capacidade de tamponar quedas no Ψ_w foliar após a perda de turgor, potencialmente agravando o estresse de dessecação nesse genótipo.

As reduções iniciais em A , observadas sob 50% CC, foram atribuídas principalmente a limitações difusionais em nível estomático, independentemente do genótipo. Essa interpretação é sustentada pela forte correlação entre A e g_s , pela diminuição em C_i (causada por uma redução proporcionalmente maior em g_s do que em A) e pela manutenção tanto da atividade fotoquímica (TTE estável) quanto da capacidade bioquímica intrínseca de fixação de CO_2 (V_{cmax} inalterado). À medida que o déficit hídrico se intensificou (30% CC), entretanto, os mecanismos limitantes da fotossíntese divergiram entre os genótipos. No genótipo THC, as reduções em A permaneceram predominantemente associadas ao fechamento estomático. Em contraste, no genótipo CBD, restrições no mesofilo e limitações bioquímicas parecem ter contribuído mais

fortemente para a queda em A . Embora g_s tenha diminuído acentuadamente e A tenha permanecido correlacionado com g_s , valores mais baixos de V_{cmax} revelaram limitações bioquímicas adicionais. Além disso, como g_s geralmente se correlaciona com a condutância do mesofilo (Flexas et al., 2016; Gago et al., 2020), é razoável supor que reduções em g_m também tenham contribuído para o declínio em A , especialmente em CBD. Essa inferência é reforçada pela observação de que os valores de C_i foram semelhantes entre os genótipos, embora A e V_{cmax} tenham sido significativamente menores em plantas CBD. Contudo, como g_m não foi medida diretamente neste estudo, essa interpretação deve ser considerada com cautela, sendo necessários estudos futuros que quantifiquem g_m explicitamente para confirmar sua contribuição para a limitação fotossintética observada. Esse contraste aponta para estratégias adaptativas distintas: o genótipo THC depende principalmente da regulação estomática, preservando a funcionalidade do aparato fotossintético, enquanto o genótipo CBD demonstra maior suscetibilidade a danos mesofílicos e bioquímicos. Do ponto de vista ecofisiológico, essas diferenças podem ter importantes implicações agrônômicas: genótipos como THC, cujas limitações são majoritariamente estomáticas, tendem a recuperar-se mais rapidamente após reidratação, o que é vantajoso sob secas episódicas. Em contrapartida, genótipos como CBD, nos quais o estresse compromete processos mesofílicos e bioquímicos, provavelmente apresentam recuperação mais lenta e incompleta da fotossíntese, aumentando o risco de perdas produtivas sob seca prolongada (Flexas & Medrano, 2002).

Os valores de TTE, independentemente do tratamento, foram plenamente suficientes para sustentar os valores observados de A (Martins et al., 2013), mesmo diante das reduções induzidas pela seca na concentração de clorofila. Sob déficit hídrico, entretanto, foi detectado um aumento marcante na razão TTE/ A , especialmente em plantas CBD a 30% CC, em que os valores foram mais de 200% superiores aos das plantas THC. Tal desequilíbrio indica que o fluxo relativo de elétrons excedeu a capacidade de fixação de carbono — condição frequentemente associada à super-redução eletrônica e ao aumento da pressão de excitação sobre o FSII (Marçal et al., 2021). Em concordância, observaram-se quedas acentuadas em q_L , refletindo menor abertura dos centros de reação do FSII e um desequilíbrio entre excitação fotoquímica e utilização eletrônica no metabolismo subsequente (Kramer et al., 2004). Esse cenário aponta para maior pressão oxidativa nos cloroplastos, que pode culminar em estresse oxidativo e fotoinibição (Marçal et al., 2021). Embora parte desse excesso de elétrons possa ser dissipada via fotorrespiração (particularmente nas plantas CBD) (Villalobos-González et

al., 2022; Wingler et al., 2000), os menores valores de NPQ indicam que a dissipação térmica de energia excedente via ciclo das xantofilas foi insuficientemente ativada (Muller et al., 2001; Murchie & Lawson, 2013). Essa interpretação é consistente com as reduções observadas nos teores de carotenoides, restringindo ainda mais a capacidade de atenuar a energia via extinção não-fotoquímica. Como consequência, as plantas exibiram claros sinais de fotoinibição do FSII, evidenciados pelas reduções em F_v/F_m induzidas pela seca — indicando que uma fração dos centros de reação foi danificada ou temporariamente inativada (Baker & Rosenqvist, 2004; Zhuang et al., 2020). Em apoio a isso, os valores de F_o aumentaram substancialmente mesmo após ~2 horas de aclimação ao escuro. Embora tais aumentos não confirmem de forma inequívoca fotoinibição crônica, especialmente na ausência de aclimação noturna, eles sugerem pressão de excitação sustentada sobre o FSII e possível agravamento da formação de EROs.

Como as atividades das enzimas antioxidantes foram simultaneamente reduzidas sob seca, a metabolização das EROs ficou prejudicada. Curiosamente, apesar dessa redução geral, as plantas CBD apresentaram atividades relativamente maiores de SOD e CAT, bem como teores mais altos de fenóis totais, em comparação às plantas THC. No entanto, esses ajustes foram insuficientes para compensar a maior carga oxidativa em CBD. Em última análise, a interação entre a pressão de excitação e as defesas antioxidantes convergiu para um resultado semelhante em ambos os genótipos, refletido em níveis comparáveis de dano oxidativo, evidenciado pelo aumento (semelhante) nas concentrações de MDA, marcador clássico de peroxidação lipídica (Farooq et al., 2009).

Não foi observada redução significativa na biomassa total das plantas sob déficit hídrico, provavelmente porque o estresse foi imposto após o início da floração — fase em que o crescimento vegetativo diminui drasticamente ou cessa em espécies anuais (Araki, 2001). A maior biomassa total das plantas CBD, contudo, não pode ser atribuída a maiores valores de A por unidade de área foliar, a diferenças de área foliar, a concentrações de carboidratos nas folhas ou propriedades elásticas da parede celular, conforme discutido anteriormente. Em vez disso, as plantas CBD investiram desproporcionalmente no crescimento do caule, sugerindo uma tendência de alocar mais carbono para tecidos estruturais em detrimento dos órgãos reprodutivos, especialmente sob estresse. Por outro lado, a estabilidade do IC nas plantas THC indica maior capacidade de manter a partição reprodutiva durante a seca, refletindo tolerância aprimorada tanto na fotossíntese quanto nos processos de alocação de assimilados. Em

concordância, a acentuada redução nos teores de amido, acompanhada de um leve aumento na concentração de sacarose, sugere mobilização de carboidratos de reserva para sustentar a exportação de assimilados para os drenos reprodutivos, promovendo uso mais eficiente do carbono sob limitação hídrica. Em condições bem irrigadas, plantas CBD e THC diferiram em biomassa das inflorescências, mas mantiveram valores de IC comparáveis. No entanto, diferenças genótípicas podem emergir quando o IC é expresso em termos energéticos (Sinha et al., 1982). Como os canabinoides (CBD, THC e CBG) são isômeros terpenoides altamente reduzidos ($C_{21}H_{30}O_2$) com baixo teor de oxigênio, seu poder calorífico ($\sim 38 \text{ MJ kg}^{-1}$) é comparável ao de lipídios e mais que o dobro do de carboidratos ou proteínas (Nelson & Cox, 2017). Consequentemente, as concentrações de canabinoides marcadamente menores nas plantas CBD ($\sim 40\%$ das observadas em THC) resultaram em menor densidade energética da biomassa de inflorescência.

O déficit hídrico imposto no início da floração reduziu as concentrações tanto de CBD quanto de THC, em concordância com estudos anteriores (Morgan et al., 2024; Park et al., 2022), que mostraram que o estresse hídrico pode prejudicar o desempenho fotossintético e, consequentemente, a biossíntese de canabinoides (Gill et al., 2022; Qiao et al., 2024). No presente estudo, a queda acentuada de *A* sob seca reduziu fortemente tanto o IC quanto a concentração total de canabinoides em plantas CBD. Em plantas THC, entretanto, a redução mais moderada de *A*, aliada à maior mobilização de carboidratos, foi insuficiente para comprometer o rendimento das inflorescências ou o IC, embora o conteúdo energético tenha diminuído proporcionalmente à redução na concentração de canabinoides. Notavelmente, a queda na concentração de CBG observada no genótipo THC sob seca pode refletir ativação funcional (ou manutenção) das enzimas biossintéticas-chave na via dos canabinoides (Park et al., 2022). De todo modo, ambos os genótipos apresentaram reduções induzidas pela seca na acumulação de canabinoides, evidenciando a sensibilidade do metabolismo secundário à limitação hídrica. Ainda assim, como as plantas THC acumularam níveis basais mais altos de canabinoides, sua biomassa manteve valor energético substancialmente superior, mesmo sob estresse. Em contraste, os efeitos combinados de menor IC e menor teor de canabinoides nas plantas CBD resultaram em biomassa com retornos agronômicos e energéticos reduzidos. Em síntese, estes resultados indicam que diferenças genótípicas na alocação de carbono e na plasticidade metabólica explicam os contrastes agronômicos e energéticos observados. A capacidade superior das plantas THC de manter a partição reprodutiva e preservar metabólitos

secundários de alta energia sob seca confere dupla vantagem — maior resiliência e maior rendimento energético por unidade de biomassa.

5. CONCLUSÕES

Em resumo, as evidências fisiológicas, bioquímicas e agrônômicas combinadas demonstram que as respostas da Cannabis à seca envolvem compensações complexas entre assimilação de carbono, biossíntese de metabólitos e alocação reprodutiva, que diferem significativamente entre genótipos.

Os presentes resultados confirmaram apenas parcialmente as hipóteses iniciais. Embora as plantas do genótipo CBD fossem mais vigorosas, elas não mantiveram taxas fotossintéticas mais elevadas e, sob seca, apresentaram alterações negativas mais acentuadas no mesófilo e no metabolismo bioquímico do que as plantas do genótipo THC, que dependeram principalmente da regulação estomática. Apesar dos contrastes genotípicos nas respostas fotoprotetoras, ambos os genótipos convergiram para níveis semelhantes de dano oxidativo, indicando que a fotoproteção não foi decisiva para a divergência entre eles. Em nível agrônômico, as plantas do genótipo THC mantiveram um maior índice de colheita sob seca, concentrações basais maiores de canabinoides e maior valor energético. Em contraste, o declínio mais acentuado na concentração de canabinoides observado nas plantas do genótipo CBD foi amplamente atribuído à redução da fotossíntese e ao uso menos eficiente dos carboidratos, enquanto nas plantas do genótipo THC a própria via metabólica parece ter sido modificada, como sugerido pelas reduções nos teores de CBG. De modo geral, a resiliência à seca em Cannabis imposta no início da floração parece depender menos da estabilidade hidráulica e mais da proteção do desempenho fotossintético, da manutenção do metabolismo secundário e da garantia de uma partição eficiente da biomassa. Esses parâmetros representam alvos promissores para o melhoramento de genótipos mais adaptados a ambientes com disponibilidade limitada de água.

6. REFERÊNCIAS

- Araki, T. (2001) Transition from vegetative to reproductive phase. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4, 63–68.
- Ali, S., Mir, R.A., Haque, M.A., Danishuddin, Almalki, M.A., Alfredan, M., Khalifa, A., Mahmoudi, H., Shahid, M., Tyagi, A., Mir, Z.A. (2025) Exploring physiological and molecular dynamics of drought stress responses in plants: challenges and future directions. *Front. Plant Sci.* 16, 1565635.
- Baker, N.R., Rosenqvist, E. (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.* 55, 1607–1621.
- Balant, M., Gras, A., Ruz, M., Vallès, J., Vitales, D., Garnatje, T. (2021) Traditional uses of Cannabis: An analysis of the CANNUSE database. *J. Ethnopharmacol.* 279, 113894.
- Barker, D.J., Sullivan, C.Y., Moser, L.E. (1993) Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity, and proline in five forage grasses. *Agron. J.* 85, 631-636.
- Bartlett, M.K., Scoffoni, C., Sack, L. (2012) The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. *Ecol. Lett.* 15, 393–405.
- Bender-Machado, L., Bauerlein, M., Carrari, F., Schauer, N., Lytovchenko, A., Gibon, Y., Kelly, A.A., Ehlers-Loureiro, M., Muller-Rober, B., Willmitzer, L., Fernie, A.R. (2004) Expression of a yeast acetyl CoA hydrolase in the mitochondrion of tobacco plants inhibits growth and restricts photosynthesis. *Plant Mol. Biol.* 55, 645–662.
- Bialeski, R.L., Turner, N.A. (1966) Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. *Anal. Biochem.* 17, 278–293.
- Blum, A. (2017) Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant Cell Environ.* 40, 4–10.
- Blackman, C.J., Brodribb, T.J. (2011) Two measures of leaf capacitance: insights into the water transport pathway and hydraulic conductance in leaves. *Funct. Plant Biol.* 38, 118–126.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.

- Caplan, D., Dixon, M., Zheng, Y. (2019) Increasing inflorescence dry weight and cannabinoid content in medical cannabis using controlled drought stress. *HortScience* 54, 964–969.
- Carillo, P., Gibon, Y. (2011) Protocol: extraction and determination of proline. PrometheusWiki 2011, 1–5.
- Cavatte, P.C., Oliveira, A.A., Morais, L.E., Martins, S.C., Sanglard, L.M., DaMatta, F.M. (2012) Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. *Physiol. Plant.* 144, 111–122.
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* 103, 551–560.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., Pereira, J.S. (2003) Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biol.* 30(3), 239-264.
- Clarke R.C., Merlin M.D. (2016) Cannabis: Evolution and Ethnobotany. University of California Press, Berkeley, 456 pp.
- Cosentino, S.L., Riggi, E., Testa, G., Scordia, D., Copani, V. (2013) Evaluation of European developed fibre hemp genotypes (*Cannabis sativa* L.) in semi-arid Mediterranean environment. *Ind. Crops Prod.* 50, 312–324.
- DaMatta, F.M., Godoy, A.G., Menezes-Silva, P.E., Martins, S.C.V., Sanglard, L.M.V.P., Morais, L.E., Torre-Neto, A., Ghini, R. (2016) Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. *J. Exp. Bot.* 67, 341–352.
- De Kauwe, M.G., Lin, Y.S., Wright, I.J., Medlyn, B.E., Kristine, Y., Crous, K.Y., Ellsworth, D.S., Maire, V., Prentice, I.C., Atkin, O.K., Rogers, A., Niinemets, Ü., Serbin, S.P., Meir, P., Uddling, J., Togashi, H.F., Tarvainen, L., Weerasinghe, L.K., Evans, B.J., Ishida, F.Y., Domingues, T.F. (2016) A test of the ‘one-point method’ for estimating maximum carboxylation capacity from field-measured, light-saturated photosynthesis. *New Phytol.* 210, 1130–1144.
- Dusenge, M.E., Duarte, A.G., Way, D.A. (2019) Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. *New Phytol.* 221(1), 32-49.
- ElSohly, M.A., Gul, W., Wanas, A.S., Radwan, M.M. (2014) Synthetic Cannabinoids: Analysis and Metabolites. *Life Sci.* 97, 78-90.

- Farooq A, Farooq N, Akbar H, Hassan ZU, Gheewala SH (2023) A Critical Review of Climate Change Impact at a Global Scale on Cereal Crop Production. *Agronomy* 13(1), 1-17.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.* 29, 185–212.
- Fernie, A.R., Roscher, A., Ratcliffe, R.G., Kruger, N.J. (2001) Fructose 2,6-bisphosphate activates pyrophosphate: fructose 6 phosphate 1-phosphotransferase and increases triose phosphate to hexose phosphate cycling in heterotrophic cells. *Planta* 212, 250–263.
- Fetterman, P.S., Keith, E.S., Waller, C.W., Guerrero, O., Doorenbos, N.J., Quimby, M.W. (1971) Mississippi-grown *Cannabis sativa* L.: preliminary observation on chemical definition of phenotype and variations in tetrahydrocannabinol content versus age, sex, and plant part. *J. Pharm. Sci.* 60, 1246–1249.
- Flexas, J., Díaz-Espejo, A., Conesa, M.A., Coopman, R.E., Douthe, C., Gago, J. et al. (2016) Mesophyll conductance to CO₂ and Rubisco as targets for improving intrinsic water use efficiency in C₃ plants. *Plant Cell Environ.* 39, 965–982.
- Flexas, J., Medrano, H. (2002) Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Ann. Bot.* 89, 183–189.
- Gago, J., Daloso, D.M., Carriquí, M., Nadal, M., Morales, M., Araújo, W.L., Nunes-Nesi, A., Perera-Castro, A.V., Clemente-Moreno, M.J., Flexas, J. (2020) The photosynthesis game is in the “interplay”: mechanisms underlying CO₂ diffusion in leaves. *Environ. Exp. Bot.* 178, 104174.
- Gebrechorkos, S.H., Sheffield, J., Vicente-Serrano, S.M., Funk, C., Miralles, D.G., Peng, J., Dyer, E., Talib, J., Beck, H.E., Singer, M.B., Dadson, S.J. (2025) Warming accelerates global drought severity. *Nature* 642, 628–635.
- Giannopolitis, C.N., Ries, S.K. (1977) Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59, 309–314.
- Gill A.R., Loveys B.R., Cowley J.M., Hall T., Cavagnaro T.R. & Burton R.A. (2022) Physiological and morphological responses of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) to water deficit. *Ind. Crops Prod.* 187, 115331.
- Harley, P.C., Sharkey, T.D., Loreto, F., Graham, B. (1992) Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂. *Plant Physiol.* 98(4), 1429-1436.

- Havir, E.A., McHale, N.A. (1987) Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiol.* 84, 450–455.
- Hodges, D.M., DeLong, J.M., Forney, C.F., Prange, R.K. (1999) Improving the thiobarbituric acid reactive substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207, 604–611.
- Iñiguez, C., Capó-Bauçà, S., Niinemets, Ü. *et al.* (2020) Evolutionary trends in RuBisCO kinetics and their co-evolution with CO₂ concentrating mechanisms. *Plant. J.* 101, 897–918.
- IPCC (2023) Climate change 2023: Synthesis report. A report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Available online: <https://www.ipcc.ch/report/ar6/syr/>.
- Jarén, C., Zambrana, P.C., Pérez-Roncal, C., López-Maestresalas, A., Ábrego, A., Arazuri, S. (2022) Potential of NIRS technology for the determination of cannabinoid content in industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Agronomy* 12, 938.
- Jin, D., Jin, S.X., Chen, J. (2019) Cannabis Indoor Growing Conditions, Management Practices, and Post-Harvest Treatment: A Review. *Am. J. Plant. Sci.* 10, 925–946.
- Kramer, D.M., Johnson, G., Kiirats, O., Edwards, G.E. (2004) New fluorescence parameters for the determination of Q_A redox state and excitation energy fluxes. *Photosynth. Res.* 79, 209–218.
- Kwak, S.S., Lee, M.S., Park, I.H., Kim, I.J., Liu, J.R. (1996) Enhancement of peroxidase activity by stress-related chemicals in sweet potato. *Phytochemistry* 43, 565–568.
- Landi, M. (2017) Commentary to: “Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds” by Hodges et al., *Planta* (1999) 207, 604–611. *Planta* 245, 1067.
- Lisec, J., Schauer, N., Kopka, J., Willmitzer, L., Fernie, A.R. (2006) Gas chromatography mass spectrometry–based metabolite profiling in plants. *Nat. Protoc.* 1, 387–396.
- Lloyd, J., Grace, J., Miranda, A., Meir, P., Wong, S., Miranda, H., Wright, I., Gash, J., McIntyre, J. (1995) A simple calibrated model of Amazon rainforest productivity based on leaf biochemical properties. *Plant Cell Environ.* 18, 1129–1145.

- Malhi, G.S., Kaur, M., Kaushik, P. (2021) Impact of climate change on agriculture and its mitigation strategies: A review. *Sustainability* 13(3), 1-21.
- Marçal, D.M., Avila, R.T., Quiroga-Rojas, L.F., de Souza, R.P., Junior, C.C.G., Ponte, L.R., Barbosa, M.L., Oliveira, L.A., Martins, S.C.V., Ramalho, J.D.C., DaMatta, F.M. (2021) Elevated [CO₂] benefits coffee growth and photosynthetic performance regardless of light availability. *Plant Physiol. Biochem.* 158, 524–535.
- Marshall, J.G., Dumbroff, E.B. (1999) Turgor regulation via cell wall adjustment in white spruce. *Plant Physiol.* 119, 313–319.
- Martins, S.C.V., Galmés, J., Molins, A., DaMatta, F.M. (2013) Improving the estimation of mesophyll conductance to CO₂: on the role of electron transport rate correction and respiration. *J. Exp. Bot.* 64, 3285–3298.
- Maxwell, K., Johnson, G.N. (2000) Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51, 659–668.
- Morgan, W., Singh, J., Kesheimer, K., Davis, J., Sanz-Saez, A. (2024) Identifying physiological traits related with drought tolerance and water-use efficiency in floral hemp (*Cannabis sativa* L.). *Crop Sci.* 64, 354–372.
- Murchie, E.H., Lawson, T. (2013) Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *J. Exp. Bot.* 64, 3983–3998.
- Muller, P., Li, X.P., Niyogi, K.K. (2001) Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiol.* 125, 1558–1566.
- Nadal, M., Flexas, J., Gulías, J. (2018) Possible link between photosynthesis and leaf modulus of elasticity among vascular plants: a new player in leaf traits relationships? *Ecol. Lett.* 21(9):1372-1379.
- Nelson, D.L., Cox, M.M. (2017) *Lehninger principles of biochemistry*, 7th edn. W.H. Freeman, New York.
- Onoda, Y., Wright, I.J., Evans, J.R., Hikosaka, K., Kitajima, K., Niinemets, Ü., Peña-Rojas, K., Poorter, H., Tosens, T., Westoby, M. (2017) Physiological and structural tradeoffs underlying the leaf economics spectrum. *New Phytol.* 214, 1447–1463.
- Qiao, M., Hong, C., Jiao, Y., Hou, S., Gao, H. (2024) Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants* 13, 1808.

- Park, S.H., Pauli, C.S., Gostin, E.L., Staples, S.K., Seifried, D., Kinney, C. & Vanden Heuvel, B.D. (2022) Effects of short-term environmental stresses on the onset of cannabinoid production in young immature flowers of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *J. Cannabis Res.* 4, 1.
- Peixoto, P.H.P., Cambraia, J., Sant'Anna, R., Mosquim, P.R., Moreira, M.A. (1999) Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 11, 137–143.
- Pollio, A. (2016) The name of Cannabis: a short guide for nonbotanists. *Cannabis Cannabinoid Res.* 1(1), 234-238.
- Potter, D.J. (2014) A review of the cultivation and processing of cannabis (*Cannabis sativa* L.) for production of prescription medicines in the UK. *Drug Test Anal.* 6, 31-38.
- Praxedes, S.C., DaMatta, F.M., Loureiro, M.E., Maria, M.A., Cordeiro, A.T. (2006) Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. *Environ. Exp. Bot.* 56, 263–273.
- Rafiq, H., Hartung, J., Schober, T., Vogt, M.M., Carrera, D.A., Ruckle, M., Graeff-Hönninger, S. (2024) Non-destructive near-infrared technology for efficient cannabinoid analysis in cannabis inflorescences. *Plants* 13, 833.
- Reichel, P., Munz, S., Hartung, J., Kotiranta, S., Graeff-Hönninger, S. (2022) Impacts of different light spectra on CBD, CBDA and terpene concentrations in relation to the flower positions of different *Cannabis sativa* L. strains. *Plants* 11, 2695.
- Savé, R., Biel, C., Domingo, R., Ruiz-Sánchez, M.C., Torrecillas, A. (1995) Some physiological and morphological characteristics of citrus plants for drought resistance. *Plant Sci.* 110(2), 167-172.
- Sharkey, T.D., Bernacchi, C.J., Farquhar, G.D., Singaas, E.L. (2007) Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant Cell Environ.* 30, 1035–1040.
- Sinha, S.K., Bhargava, S.C., Goel, A. (1982) Energy as the basis of harvest index. *J. Agric. Sci.* 99, 237–238.
- Small, E. (2015) Evolution and classification of *Cannabis sativa* (marijuana, hemp) in relation to human utilization. *Bot. Rev.* 81: 189-294.

- Sunil, B., Saini, D., Bapatla, R.B., Aswani, V., Raghavendra, A.S. (2019) Photorespiration is complemented by cyclic electron flow and the alternative oxidase pathway to optimize photosynthesis and protect against abiotic stress. *Photosynth. Res.* 139, 67-79.
- Turner, N.C., Jones, M.M. (1980) Turgor maintenance by osmotic adjustment: A review and evaluation. *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. New York: Wiley p. 87-103.
- Tyree, M.T., Hammel, H.T. (1972) The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *J. Exp. Bot.* 23, 267–282.
- Valentini, R., Epron, D., De Angelis, P., Matteucci, G., Dreyer, E. (1995) In situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Q. cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant Cell Environ.* 18, 631–640.
- Villalobos-González, L., Alarcón, N., Bastías, R., Pérez, C., Sanz, R., Peña-Neira, Á., Pastenes, C. (2022) Photoprotection is achieved by photorespiration and modification of the leaf incident light, and their extent is modulated by the stomatal sensitivity to water deficit in grapevines. *Plants* 11, 1050.
- von Caemmerer, S., Evans, J.R., Hudson, G.S., Andrews, T.J., Seemann, J.R. (1994) The kinetics of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in vivo inferred from measurements of photosynthesis in leaves of transgenic tobacco. *Planta* 195, 88–97.
- Walters, R.G. (2005) Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *J. Exp. Bot.* 56(411), 435-447.
- Wingler, A., Lea, P.J., Quick, W.P., Leegood, R.C. (2000) Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 355, 1517–1529.
- Woolfenden, H.C., Baillie, A.L., Gray, J.E., Hobbs, J.K., Morris, R.J., Fleming, A.J. (2018) Models and mechanisms of stomatal mechanics. *Trends Plant Sci* 23(9), 822-832.
- Yemm, E.W., Cocking, E.C., Ricketts, R.E. (1955) The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst* 80, 209–214.
- Zhou, H., Hou, L., Lv, X., Yang, G., Wang, Y., Wang, X. (2022) Compensatory growth as a response to post-drought in grassland. *Front. Plant Sci.* 13:867001.

Zhuang, J., Wang, Y., Chi, Y., Zhou, L., Chen, J., Zhou, W., Song, J., Zhao, N., Ding, J. (2020) Drought stress strengthens the link between chlorophyll fluorescence parameters and photosynthetic traits. *PeerJ* 8, e10046.