

SÉRGIO BARBOSA FERREIRA ROCHA

**CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES DE *Cannabis sativa* L. CULTIVADAS NO
BRASIL PARA USO MEDICINAL E INDUSTRIAL**

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

Orientador: Derly José Henriques da Silva

Coorientador: Paulo Roberto Cecon

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

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

T

R672c
2022

Rocha, Sergio Barbosa Ferreira, 1985-
Caracterização de variedades de *Cannabis sativa* L.
cultivadas no Brasil para uso medicinal e industrial / Sergio
Barbosa Ferreira Rocha. – Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (91 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Derly José Henriques da Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Agronomia, 2022.
Referências bibliográficas: f. 85-91.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.398>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Maconha - Melhoramento genético. 2. Maconha -
Recursos do germoplasma. 3. Maconha - Uso terapêutico .
I. Silva, Derly José Henriques da, 1961-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de
Pós-graduação em Fitotecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 633.792

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto CRB6 2523

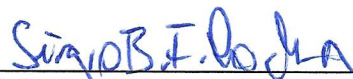
SÉRGIO BARBOSA FERREIRA ROCHA

**CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES DE *Cannabis sativa* L. CULTIVADAS NO
BRASIL PARA USO MEDICINAL E INDUSTRIAL**

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

APROVADA: 16 de março de 2022.

Assentimento:



Sérgio Barbosa Ferreira Rocha
Autor



Derly José Henriques da Silva
Orientador

A todas as pessoas perseguidas ao longo dos anos de proibição da Cannabis. Aos milhares de presos e mortos, resultado da perseguição irracional à uma planta cujos benefícios são imensuráveis para a sociedade. Às comunidades marginalizadas e que sofrem as consequências da nefasta política de drogas que mascara a política de extermínio da população negra e pobre. A todos que vieram antes de mim, e que hoje e amanhã se levantam contra o autoritarismo e a manutenção dos privilégios de uma minoria que se beneficia de tais injustiças.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida.

Aos meus familiares pelos valores ensinados e incentivo para minha formação acadêmica.

Aos meus antepassados, reis e rainhas africanos, que foram escravizados e deram suas vidas para que hoje eu possa estar vivo.

Aos meus amigos, pelo apoio ao longo dos anos, pelas reflexões e ensinamentos.

Aos meus colegas de trabalho da ADWA Cannabis pela dedicação e por acreditarem nesta proposta.

À Universidade Federal de Viçosa, através de seus professores, técnicos e servidores, em especial aos professores José Maria Moreira Dias e Rubens Alves de Oliveira pelo apoio e sábias palavras de reflexão, mas principalmente ao professor Caetano Marciano de Souza, por abrir as portas da UFV para que o tema deste trabalho pudesse ser tratado com o devido respeito e seriedade, pelo apoio, inspiração e amizade.

Ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da UFV, através do professor Carlos Eduardo Magalhães dos Santos, e ao Departamento de Agronomia da UFV, através do professor Ricardo Henrique Silva Santos, pelo apoio que permitiu a continuidade dos experimentos, e ao doutorando Francisco Davi da Silva pela ajuda nas análises estatísticas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

“Vários irmãos se recolhem, vão em frente. Vários também escravizam sua mente. Eu sei bem, quebro a corrente onde passo, implanto a minha semente. Gafanhotos nunca tomam de quem tem. Predadores, senhores que mentem. Esperem sentados a rendição, nossa vitória não será por acidente”.

(Planet Hemp)

RESUMO

ROCHA, Sérgio Barbosa Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2022. **Caracterização de variedades de *Cannabis sativa* L. cultivadas no Brasil para uso medicinal e industrial.** Orientador: Derly José Henriques da Silva. Coorientador: Paulo Roberto Cecon.

A *Cannabis sativa* L. já é considerada uma nova commodity agrícola devido ao potencial medicinal de seus compostos químicos, utilizados para o tratamento de doenças raras e também para doenças que afligem milhões de pessoas; e pela versatilidade, qualidade e alta produtividade de suas fibras e grãos que podem ser utilizados como fonte de matéria prima renovável por uma infinidade de indústrias de transformação, dos mais variados níveis tecnológicos. O Brasil possui enorme potencial para ser um dos maiores produtores desta matéria prima e de tecnologias voltadas para esse setor, porém faltam materiais genéticos adaptados às condições edafoclimáticas brasileiras que viabilizem sistemas de produção eficientes, com alta qualidade, baixo impacto e custo. A escolha dos genitores que irão compor um cruzamento é uma etapa crucial em um programa de melhoramento genético. O cruzamento de genitores com alto grau de divergência é uma das estratégias para se obter maior ganho genético e progênies superiores para as características de interesse. Neste trabalho foram avaliadas 4 variedades da espécie e as mesmas foram agrupadas em relação à estimativa da divergência genéticas entre elas, através da distância de Mahalanobis. Para os fatores de comportamento agrônomo, de produtividade e concentração de canabinoides foram identificados 2 grupos divergentes. Para os fatores biométricos e características físico químicas das fibras foram identificados 3 grupos divergentes.

Palavras-chave: Melhoramento genético. Recursos genéticos. Germoplasma. Cânhamo. Maconha.

ABSTRACT

ROCHA, Sérgio Barbosa Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2022. **Characterization of varieties of *Cannabis sativa* L. grown in Brazil for medicinal and industrial use.** Adviser: Derly José Henriques da Silva. Co-adviser: Paulo Roberto Cecon.

Cannabis sativa L. is already considered a new agricultural commodity due to the medicinal potential of its chemical compounds, used to treat rare diseases and also for diseases that afflict millions of people; and for the versatility, quality and high productivity of its fibers and grains, which can be used as a source of renewable raw material by an infinity of transformation industries, of the most varied technological levels. Brazil has enormous potential to be one of the largest producers of this raw material and technologies aimed at this sector, but there is a lack of genetic materials adapted to Brazilian soil and climate conditions that enable efficient production systems, with high quality, low impact and cost. The choice of parents that will compose a cross is a crucial step in a genetic breeding program. The crossing of parents with a high degree of divergence is one of the strategies to obtain greater genetic gain and superior progenies for the traits of interest. In this work, 4 varieties of the species were evaluated and they were grouped in relation to the estimation of the genetic divergence between them, through the Mahalanobis distance. For the factors of agronomic behavior, productivity and concentration of cannabinoids, 2 divergent groups were identified. For the biometric factors and physicochemical characteristics of the fibers, 3 divergent groups were identified.

Keywords: Genetic breeding. Genetic resources. Germplasm. Hemp. Marijuana.

LISTA DE FOTOS

Foto 1 - Casa de vegetação do Departamento de Agronomia (DAA).....	35
Foto 2 - Interior da casa de vegetação do Departamento de Agronomia (DAA).....	36
Foto 3 - Semeadura das variedades.....	37
Foto 4 - Semeadura das variedades.....	37
Foto 5 - Plântulas após germinação das sementes.....	38
Foto 6 - Muda com primeiro par de folhas.....	38
Foto 7 - Mudanças após 20 dias de semeadura.....	38
Foto 8 - Variedades A2 após transplante definitivo.....	39
Foto 9 - Variedades A3 após transplante definitivo.....	39
Foto 10 - Irrigação das plântulas.....	39
Foto 11 - Irrigação das mudas.....	39
Foto 12 - Pesagem dos fertilizantes.....	40
Foto 13 - Casa de vegetação com luzes suplementares acesas para completar o fotoperíodo da fase vegetativa.....	41
Foto 14 - Variedade A1 em estágio vegetativo.....	42
Foto 15 - Flores masculinas, femininas e início de formação de sementes da variedade A2	42
Foto 16 - Início do desenvolvimento das flores femininas da variedade A3.....	43
Foto 17 - Aferição do diâmetro do caule.....	44
Foto 18 - Aferição do diâmetro do caule.....	45
Foto 19 - Aferição da altura da planta.....	45
Foto 20 - Variedades A1 durante a fase vegetativa.....	47
Foto 21 - Equipamento Gemmacert utilizado nas análises da concentração de canabinoides	48

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Dados de temperatura e umidade relativa do ar ao longo do cultivo.....	51
Gráfico 2 - Valores médios para a altura de planta por variedade.....	52
Gráfico 3 - Valores médios para o diâmetro de copa por variedade.....	52
Gráfico 4 - Valores médios para o comprimento médio dos entrenós por variedade.....	53
Gráfico 5 - Valores médios para o número de ramos por variedade.....	53
Gráfico 6 - Valores médios para o comprimento dos ramos por variedade.....	53
Gráfico 7 - Valores médios para o número de nós dos ramos.....	53
Gráfico 8 - Valores médios para o diâmetro do coleto.....	53
Gráfico 9 - Valores médios para o diâmetro do caule no 4º nó.....	53
Gráfico 10 - Valores médios para o diâmetro do caule no 8º nó.....	54
Gráfico 11 - Índice de crescimento (IC) por variedade.....	55
Gráfico 12 - Valores médios para a duração do ciclo em graus dia.....	56
Gráfico 13 - Valores médios para o acúmulo de graus dia até a indução floral.....	56
Gráfico 14 - Valores médios para o acúmulo de graus dia até a abertura das flores.....	57
Gráfico 15 - Valores médios para o acúmulo de graus dia durante a floração.....	57
Gráfico 16 - Valores médios para o acúmulo de graus dia até a maturação das sementes.....	57
Gráfico 17 - Valores médios para o acúmulo de graus dia durante a fase reprodutiva.....	57
Gráfico 18 - Valores médios para o acúmulo de massa seca nos caules e ramos.....	59

Gráfico 19 - Valores médios para o acúmulo de massa seca nas folhas e flores.....	59
Gráfico 20 - Valores médios para o acúmulo de massa seca total.....	59
Gráfico 21 - Valores médios das concentrações de THC.....	60
Gráfico 22 - Valores médios das concentrações de CBD.....	60
Gráfico 23 - Valores médios da concentração de extrativos totais (%) nas fibras por variedade.....	62
Gráfico 24 - Valores médios da concentração de urônico (%) nas fibras por variedade.....	62
Gráfico 25 - Valores médios da concentração de lignina solúvel (%) nas fibras por variedade.....	63
Gráfico 26 - Valores médios da concentração de lignina insolúvel (%) nas fibras por variedade.....	63
Gráfico 27 - Valores médios da concentração de lignina total (%) nas fibras por variedade.....	63
Gráfico 28 - Valores médios da concentração de arabinose (%) nas fibras por variedade.....	63
Gráfico 29 - Valores médios da concentração de galactose (%) nas fibras por variedade.....	63
Gráfico 30 - Valores médios da concentração de glicose (%) nas fibras por variedade.....	63
Gráfico 31 - Valores médios da concentração de manose (%) nas fibras por variedade.....	64
Gráfico 32 - Valores médios da concentração de xilose (%) nas fibras por variedade.....	64
Gráfico 33 - Valores médios do comprimento médio (mm) das fibras por variedade.....	65
Gráfico 34 - Valores médios da largura média (mm) das fibras por variedade.....	65

Gráfico 35 - Valores médios do coarseness (mg/m) das fibras por variedade.....	65
Gráfico 36 - Valores médios do N° de fibras/mg por variedade.....	65
Gráfico 37 - Valores médios do percentual de fios Finos A (%) por variedade.....	65
Gráfico 38 - Valores médios do percentual de fios Finos B (%) por variedade.....	65
Gráfico 39 - Valores médios da espessura da parede celular (CWT) por variedade.....	66
Gráfico 40 - Contribuição dos componentes principais para variáveis biométricas e produtividade.....	67
Gráfico 41 - Contribuição das variáveis para a análise de componentes principais para variáveis biométricas e de produtividade.....	68
Gráfico 42 - Correlação entre variáveis biométricas e de produtividade.....	69
Gráfico 43 - Correlação numérica entre variáveis biométricas e de produtividade.....	69
Gráfico 44 - Dispersão da correlação entre variáveis biométricas e de produtividade.....	70
Gráfico 45 - Contribuição dos componentes principais para variáveis químicas e morfológicas das fibras.....	71
Gráfico 46 - Contribuição das variáveis para a análise de componentes principais para variáveis biométricas e de produtividade.....	71
Gráfico 47 - Correlação entre variáveis morfológicas e químicas das fibras.....	73
Gráfico 48 - Correlação numérica entre variáveis morfológicas e químicas das fibras.....	73
Gráfico 49 - Dispersão da correlação entre variáveis morfológicas e químicas das fibras.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variáveis para avaliação do desenvolvimento fenológico e características físico-químicas das fibras.....	46
Tabela 2 - Metodologias para análises químicas das fibras.....	49
Tabela 3 - Percentual de plantas por sexo.....	52
Tabela 4 - Valores médios das variáveis biométricas analisadas.....	52
Tabela 5 - Agrupamento por dados biométricos, e contribuição relativa das variáveis.....	54
Tabela 6 - Duração do ciclo, em dias, por variedade.....	56
Tabela 7 - Duração do ciclo, em graus dia (GD), por variedade.....	56
Tabela 8 - Agrupamento por duração do ciclo e fase fenológica, e contribuição relativa das variáveis.....	58
Tabela 9 - Peso de matéria fresca e seca por parte das plantas por variedade.....	58
Tabela 10 - Agrupamento por produtividade, e contribuição relativa das variáveis...	59
Tabela 11 - Concentração de canabinoides por variedade.....	60
Tabela 12 - Agrupamento por concentração de canabinoides, e contribuição relativa das variáveis.....	61
Tabela 13 - Análise química das fibras por variedade.....	62
Tabela 14 - Análise física das fibras por variedade.....	64
Tabela 15 - Agrupamento por dados físico químicos das fibras, e contribuição relativa das variáveis.....	66

LISTA DE SIGLAS

- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ALT - Altura da planta (cm)
- ARA - Arabinose (%)
- CBD - Canabidiol
- CBDV - Cannabidivarin
- CCA - Centro de Ciências Agrárias
- CME - Comprimento internodal (cm)
- COAR - coarseness (mg/m)
- CMISO - Comprimento médio ISO ponderado (mm)
- CR - Comprimento do ramo no terço médio da planta (cm)
- CWT - Continuous Wavelet Transform (μm)
- DAA - Departamento de Agronomia
- DAE - Dias até a emergência de 50% das plântulas
- DAF - dias até a abertura de 50% das flores em 50% das plantas
- DC - Duração do ciclo
- DC4 - Diâmetro do caule no 4º nó (mm)
- DC8 - Diâmetro do caule no 8º nó (mm).
- DCC - Diâmetro do coleto (mm)
- DC -Diâmetro da copa no terço médio da planta (cm)
- DEA - Departamento de Engenharia Agrícola
- DEF - Departamento de Engenharia Florestal
- DF - Duração da floração: dias entre o dia da indução floral em 50 % das plantas até o dia da abertura de 50% das flores em 50% das plantas
- DIF - Dias até a indução floral em 50% das plantas
- DMS - Dias até a maturação de 50% das sementes em 50% das plantas fêmeas ou monoicas
- DR - Duração da fase reprodutiva = dias entre a abertura de 50% das flores de 50% das plantas até o dia da maturação de 50% das sementes em 50% das plantas fêmeas ou monoicas

DTI - Diretoria de Tecnologia da Informação

EXT - Extrativos totais (%)

FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais

FINOSA - Percentual de finos A

FINOSB - Percentual de finos B

FST - Índice de fixação média

GAL - Galactose (%)

GD - Graus Dia

GLIC - Glicose (%)

IFSudeste MG - Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

ILAC - International Laboratory Accreditation Cooperation

ISRAC - Israel Laboratory Accreditation Authority

LMISO - Largura média ISO ponderada (μm)

LCP - Laboratório de Celulose e Papel

LIGINS - Lignina insolúvel (%)

LIGSOL - Lignina solúvel (%)

TLIG - Total de lignina (%)

MAN - Manose (%)

MFFF - Peso de massa fresca das folhas e flores (g)

MFRC - Peso de massa fresca dos caules e ramos (g)

MFTOT - Peso de massa fresca total (g)

MSFF - Peso da massa seca das folhas e flores (g)

MSCR - Peso da massa seca dos caules e ramos (g)

MST - Peso da massa seca total (g)

FBISO - N° de fibras ISO (n°/mg)

NR - N° de nós do caule

NSR - Número de nós no ramo do terço médio da planta

TCC - Trabalho de conclusão de curso

TecnoPARQ - Parque Tecnológico de Viçosa

THC -Tetrahydrocannabinol

THCV - Tetrahydrocannabivarin

TMAXM - Temperatura máxima média

TMÉD - Temperatura média

TMINM - Temperatura mínima média

UFV - Universidade Federal de Viçosa

URMAXM - Umidade relativa máxima média

URMED - Umidade relativa média

URMINM - Umidade relativa mínima média

URO - Urônicos (%)

XIL - Xilose (%)

SUMÁRIO

CAPÍTULO UM: INTRODUÇÃO GERAL	17
1.1. Introdução	17
1.2. Contextualização histórica do Projeto	18
1.3. Estado da arte	23
CAPÍTULO DOIS: OBJETIVOS E METODOLOGIA	34
2.1. Objetivos	34
2.2. Materiais e Métodos	34
3. CAPÍTULO TRÊS: RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
3.1. Resultados	51
3.1.1. Análise biométrica e comportamento agronômico	51
3.1.2. Análise físico química das fibras	61
3.1.3. Análise de Componentes Principais	66
3.2. Discussão	74
4. CONCLUSÕES GERAIS	83
REFERÊNCIAS	85

1. CAPÍTULO UM: INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Introdução

Devido aos seus efeitos medicinais a *Cannabis sativa* L. vem sendo usada em pacientes que possuem doenças de difícil tratamento como Alzheimer, epilepsia, Parkinson e também para o tratamento de doenças que atingem milhões de pessoas em todo o mundo como diversos tipos de câncer, dores crônicas e muitas outras enfermidades (ZIELONKA; KIRAGA; KOZŁOWSKI, 2020).

Além dos seus usos medicinais a *Cannabis sativa* L. também é utilizada por diversas indústrias de transformação que vão desde indústrias de tecido, papel e celulose, passando pela indústria de cosméticos, alimentícia até indústrias com tecnologias de ponta como a automobilística e aeronáutica (CRINI et al., 2020). Por esses motivos a Cannabis já é considerada uma commodity agrícola (JOHNSON, 2017) e o seu mercado movimentou em todo o mundo mais de 344 bilhões de dólares apenas em 2019 (MORRISSEY et al., 2019).

Atualmente, embora já existam três associações (“Juíza concede HC coletivo para associação plantar maconha para fins medicinais,” 2021) e mais de 300 famílias no Brasil que possuem autorização para cultivo para fins medicinais (OLIVEIRA, 2021), não existem variedades melhoradas destas plantas que estejam bem adaptadas às condições de clima e solo do país, o que acaba por aumentar o custo de produção e reduzir a qualidade do produto final (LEMOS, 2021).

Para o desenvolvimento de variedades superiores, que atendam as demandas do mercado, e que sejam resistentes a pragas e doenças, além de adaptadas às condições edafoclimáticas brasileiras é necessário dar início a um programa de melhoramento genético desta espécie no país, buscando obter, através de diversas técnicas, materiais superiores e que atendam às novas demandas do mercado. Portanto, caracterizar as variedades atualmente cultivadas é fundamental para que possam ser indicados os melhores cruzamentos com o objetivo de se obter variedades híbridas que possam ser cultivadas com sucesso no Brasil, permitindo a instalação de sistemas produtivos que garantam alta qualidade e produtividade a baixo custo (VIEIRA, 2020).

O manejo de germoplasma é fundamental no melhoramento genético das espécies e para tal é fundamental o conhecimento sobre a diversidade genética presente nas variedades disponíveis. É exatamente a variabilidade existente entre os indivíduos, após a sua caracterização e avaliação, que se apresenta como recurso genético para o melhorista. Alguns autores (DE MEIJER; VAN DER KAMP; VAN EEUWIJK, 1992; YOSHIMATSU et al., 2004; TROFIN et al., 2012; DORICE; EPHRAIM; GEORGE, 2020; STACK et al., 2021), acreditam que a caracterização da diversidade genética é uma prioridade entre as estratégias de manejo de recursos genéticos (BIANCHI et al., 2016).

A caracterização de diferentes variedades pode ser feita mediante análise de características morfológicas, reprodutivas, bioquímicas, citogenéticas e moleculares. Além disso, o uso de marcadores moleculares possibilita compreender melhor a diversidade genética dos indivíduos, favorecendo ainda mais os trabalhos de melhoramento genético (BIANCHI et al., 2016).

A ausência de dados sobre o comportamento agrônomo e as características físico química de variedades que possam ser cultivadas com sucesso no Brasil, e também utilizadas em programas de melhoramento genético, é um dos entraves para o estabelecimento e desenvolvimento do mercado legal desta cultura agrícola emergente no país.

A caracterização do material genético disponível pode indicar possíveis acessos de interesse para uso no país, além de identificar possíveis características importantes para serem incorporadas em um programa de melhoramento genético visando a obtenção de materiais superiores.

1.2. Contextualização histórica do Projeto

Em 2015 foi observado que o número de famílias brasileiras que reivindicavam o direito de tratar seus filhos com produtos à base de Cannabis apresentava um crescimento notável. Algumas destas famílias também pleiteavam cultivar as plantas para extraírem os compostos medicinais devido à dificuldade de acesso aos mesmos, fato que ganhou destaque na mídia (FORMIGA, 2015).

Além disso, no cenário internacional, em diversos países, alguns deles com grande expressão no agronegócio internacional, o mercado legal da Cannabis já era uma realidade. Entre estes países estavam Estados Unidos, Canadá, Israel, China, Alemanha, entre outros, e envolviam não apenas empresas produtoras das plantas, mas também de insumos e maquinários agrícolas, entre diversas outras indústrias que dão suporte à produção agrícola e a transformação de matérias primas vegetais (JOHNSON, 2013). Portanto, em outros países em que a agricultura é uma das bases da economia, a Cannabis já era tratada como uma cultura agrícola emergente (JOHNSON, 2017).

Pensando no potencial brasileiro para ser o grande fornecedor de alimentos e matéria prima de fontes renováveis para grande parte do planeta nas próximas décadas, e na importância da Cannabis enquanto cultura agrícola para as gerações futuras, surge a necessidade de iniciar um programa de melhoramento genético de Cannabis no Brasil, visando desenvolver variedades adaptadas às diferentes realidades da agricultura brasileira e que atendessem as demandas das diversas indústrias deste setor.

Sob a orientação do então professor do Departamento de Agronomia (DAA) da UFV, Caetano Marciano de Souza, foi elaborado o primeiro TCC da UFV sobre a Cannabis enquanto cultura agrícola, (ROCHA, 2018), visando dar o passo inicial para o futuro desenvolvimento das primeiras variedades brasileiras de Cannabis. O trabalho, intitulado “Proposta de pesquisa sobre o comportamento agrícola de variedades de *Cannabis sativa* L. para uso medicinal e industrial cultivadas sob as condições edafoclimáticas do município de Viçosa-MG”, propôs a introdução de 72 variedades de Cannabis para avaliação e indicação das melhores opções para cultivo e seleção dos primeiros genitores para o programa de melhoramento genético.

O trabalho também apresentou o caminho administrativo para que a UFV solicitasse as autorizações necessárias para iniciar as pesquisas envolvendo o cultivo das plantas de acordo com a legislação vigente à época. A partir de então foi iniciado, junto a UFV, através do DAA representado pelo então chefe do

departamento professor Derly José Henriques da Silva, os esforços para realizar as primeiras pesquisas sobre o tema no país.

Após a aprovação do TCC, o professor Caetano e o estudante Sérgio fundaram, ainda em 2017, o Grupo Brasileiro de Estudos sobre a *Cannabis sativa* L., grupo multidisciplinar dedicado exclusivamente às pesquisas sobre a Cannabis e primeiro grupo sobre o tema a ser reconhecido pelo CNPq.

Em 2018, o referido grupo, com o apoio da FAPEMIG, realizou a primeira edição do Cannabis Colloquium: Desenvolvimento, Ciência e Tecnologia, evento oficial da UFV para divulgar a pesquisa científica relacionada aos diversos temas nos quais a Cannabis está inserida.

Como o objetivo destes trabalhos sempre foi o desenvolvimento de variedades brasileiras de Cannabis o professor Derly foi convidado para orientar um trabalho de especialização em agroecologia em andamento junto ao Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais (IFSudeste MG). Ao final de 2018 foi defendido o trabalho “Zoneamento agroclimático para cultivo de *Cannabis sativa* L. para uso medicinal e industrial no Brasil” (ROCHA, 2018), que indicou as melhores regiões para o cultivo da planta de acordo com três finalidade e dois grupos de variedades.

Com este trabalho foi possível identificar as regiões inaptas por questões climáticas e os locais onde existe a necessidade do uso de irrigação e/ou filme agrícola devido ao excesso ou déficit hídrico. Esse pode ser considerado um segundo passo em relação ao objetivo principal de desenvolver variedades nacionais já que mapeia, além dos potenciais, alguns dos desafios a serem superados para que os cultivos dessas plantas tenham sucesso em todo o Brasil.

Ao longo desse processo o estudante Sérgio participou de diversas atividades de incentivo ao empreendedorismo na universidade, promovidas principalmente pelo Parque Tecnológico da UFV (TecnoPARQ – UFV), culminando com a fundação, ainda em 2018, da startup ADWA Cannabis que atua com o melhoramento genético de Cannabis para fins medicinais e industriais.

Também em 2018, apesar da repercussão positiva em eventos nacionais e internacionais dos trabalhos realizados até então, foi recebida a resposta negativa da ANVISA em relação a solicitação para iniciar os cultivos na UFV. A partir de então

passou-se a desenhar, junto ao departamento jurídico da ADWA Cannabis, uma estratégia judicial para que os experimentos com foco em melhoramento genético pudessem ser iniciados.

Em 2019 foi iniciado o mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFV, na área de melhoramento genético de plantas, que deu origem a este trabalho, sendo também possível desenvolver um trabalho para identificar possíveis pontos de coleta de germoplasma de Cannabis no Brasil para serem utilizadas como fontes de variabilidade genética para o programa de melhoramento. Este trabalho é uma continuidade aos dois passos anteriores relacionados à proposta de estabelecer um programa de melhoramento genético para a *C. sativa* no Brasil.

Ao longo de 2019, além da realização, em parceria com o DAA UFV, do II Cannabis Colloquium: Desenvolvimento, Ciência e Tecnologia, a ADWA Cannabis se dedicou a construção da estratégia jurídica para viabilizar o início dos experimentos e em fevereiro de 2020 foi obtido êxito através de uma decisão favorável da justiça federal.

Com essa autorização foi elaborado, junto ao DAA e a Reitoria da UFV, um acordo de cooperação técnica para iniciar e executar o primeiro programa de melhoramento genético da espécie no país, cujos resultados das primeiras atividades que envolvem a caracterização das variedades serão apresentados no decorrer deste documento.

Para possibilitar a realização das atividades a UFV disponibilizou uma casa de vegetação para a realização dos cultivos, além da aquisição de insumos como fertilizantes, vasos e substrato para cultivo. Por sua vez a empresa foi responsável por toda a adequação da estrutura, que envolveu reformas na alvenaria, instalação de sistemas de irrigação e circulação de ar, aquisição e instalação de equipamentos de monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar, câmeras de monitoramento 24 horas conectadas à central de vigilância da UFV, sensores de movimento e central de alarme monitorada e conectada à central de vigilância da universidade, além de sensores biométricos para controle de acesso ao local. A empresa também disponibilizou acesso às análises químicas dos canabinoides,

serviço jurídico e licença para uso de um software para garantir a rastreabilidade dos cultivos.

Também foram ampliadas as atividades de pesquisa, envolvendo o Departamento de Engenharia Florestal (DEF), através do Laboratório de Celulose e Papel (LCP), onde foram realizadas as análises químicas e morfológicas das fibras das plantas cultivadas para este trabalho.

Para reforçar a importância do caráter multidisciplinar nas pesquisas que envolvem os diversos temas nos quais a Cannabis se insere, atualmente, além do DAA e do DEF, a startup também possui parceria com o Departamento de Ciências Sociais para o desenvolvimento de pesquisa que abarquem também os conhecimentos específicos das Ciências Humanas e assim contribuam para que o desenvolvimento tecnológico através de produtos e serviços atenda a demanda do mercado e possa contribuir para o desenvolvimento social, econômico e ambiental do país.

Portanto, a apresentação deste material representa a consolidação de um trabalho que vem sendo desenvolvido de forma incansável desde 2016, cujo objetivo maior é inserir o Brasil na rota do desenvolvimento tecnológico em relação ao que há de mais moderno sobre as culturas agrícolas emergentes de importância global.

A relevância dos passos dados até o momento foi destaque em veículos de comunicação importantes no país, como as revistas Globo Rural e Exame e o jornal Folha de São Paulo, e também internacionais, como os portais Reuters Internacional e Prohibition Partners, e recentemente a revista Nature, demonstrando o potencial destes trabalhos para manter a UFV ao lado do que há de mais moderno em relação ao desenvolvimento de tecnologias relacionadas às culturas agrícolas emergentes.

Entendendo este como um primeiro, mas importante passo para contribuir com o desenvolvimento do agronegócio nacional a partir da independência de produção de alimentos e matéria prima de fontes renováveis, o que pode garantir a hegemonia da economia e a soberania do agronegócio brasileiro, este trabalho se apresenta como uma referência à quebra de paradigmas e a abertura de novas fronteiras para a ciência agrônoma brasileira, pois como muito bem colocado pelo professor Rubens Alves de Oliveira, professor do Departamento de Engenharia

Agrícola (DEA) da UFV e ex-diretor do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da referida universidade, “se existem assuntos polêmicos são sobre eles que a ciência precisa se debruçar”.

1.3. Estado da arte

A *Cannabis* ssp. é uma dicotiledônea anual da família Cannabaceae, com dimorfismo sexual para a maioria das variedades (FÉDÉRATION NATIONALE DES PRODUCTEURS DE CHANVRE, 2014; LANARO, 2008). Em geral as plantas possuem tronco rígido onde se inserem os ramos com folhas opostas e dispostas em pares alternados, cuja filotaxia passa a ser alternada na fase reprodutiva. O sistema radicular é constituído por uma raiz pivotante, que se aprofunda quando não há impedimentos, e raízes finas horizontais, que crescem a uma profundidade de 20 cm a 40 cm. As folhas são compostas por folíolos geralmente presentes em números ímpares, variando de três a onze, de acordo com a variedade e estágio de desenvolvimento da planta, sendo o bordo das folhas serrilhado. Embora possa variar muito de tamanho, sendo encontradas plantas de 60 cm até 7 metros de altura, a *C. sativa* L. é considerada um planta arbustiva e que se desenvolve bem tanto em regiões temperadas como tropicais (BARRETO, 2002; LANARO, 2008; ROSENTHAL, 2010).

As flores masculinas são do tipo panículas, e constituídas por cinco pétalas e cinco sépalas. Os estames possuem cinco filetes curtos e a antera encontra-se na porção terminal. Já as flores femininas possuem ovário súpero e a presença de dois estiletes com pelos e dois estigmas longos e filiformes, e se desenvolvem agrupadas em inflorescências. Os frutos são classificados como aquênios (LANARO, 2008; RIZZO, 1972). A polinização é realizada em grande maioria pela ação do vento, sendo que as plantas masculinas tendem a florescer primeiro, e sua floração se mantém durante a floração das plantas femininas (ECOFIBRE, 1970).

Na maioria das variedades de *C. sativa* L., a mudança de fase fenológica é induzida pelo fotoperíodo. Quando os níveis de fitocromos ativos produzidos pela planta alcançam um valor elevado, a planta é induzida a florescer; porém, este

pigmento pode ser inibido, ou convertido em uma forma inativa com a presença de luz. Durante a primavera e o verão, os dias são mais longos com grande período de incidência luminosa. É esse aumento de luminosidade que impede que a quantidade de fitocromos ativos seja suficiente para a planta florescer. À medida que o outono e inverno se aproximam, a quantidade de horas com radiação solar diminui, assim como a presença dos fitocromos “inativos” (Fv) inibidores do florescimento nestas plantas. Desta maneira, com o aumento da quantidade de fitocromos ativos (Fvd), a planta inicia seu florescimento (TAIZ; ZEIGER, 2006). A relação entre horas claras e escuras necessárias para o florescimento pode variar de acordo com a variedade, sendo relatadas entre oito e doze horas escuras, dependendo da variedade. A variedade *C. sativa* var. *ruderalis* é uma exceção, pois suas fases fenológicas são reguladas pela sua maturação fisiológica, e não pelo fotoperíodo (ROSENTHAL, 2010).

A *C. sativa* L. é considerada uma planta muito resistente à amplitude térmica, com exceção de temperaturas extremamente baixas, podendo sobreviver em temperaturas de até 49° C, desde que haja disponibilidade de água. A maior parte dos estudos realizados com *C. sativa* L. foram realizados em ambientes controlados, e indicam que a melhor faixa de temperatura para o desenvolvimento da *C. sativa* L. está entre os 29 °C e 35 °C quando há injeção de CO₂, já que a planta tem boa resposta aos aumentos de gás carbônico nesta faixa de temperatura. O mesmo não ocorre quando a temperatura encontra-se abaixo dos 24 °C. Para o cultivo sem injeção de CO₂, a recomendação é manter a temperatura abaixo dos 35 °C. A temperatura média ideal é de 21 °C, com uma faixa entre 15°C e 29 °C sem injeção de CO₂. Temperaturas abaixo dos 10 graus reduzem o crescimento das plantas, sendo as raízes mais sensíveis do que a parte aérea (ROSENTHAL, 2010).

As melhores respostas fisiológicas das plantas são obtidas com uma umidade relativa entre 40% e 65%. Embora uma umidade mais próxima a 65% favoreça a planta, também é benéfica para a proliferação de patógenos, principalmente fungos, caso não haja uma boa aeração e iluminação em toda a área da copa das plantas. Deve-se atentar para a presença de umidade na superfície da planta durante as horas escuras, como no caso de irrigação por aspersão ou em regiões onde a

ocorrência de orvalho seja intensa, pois a reprodução de fungos é favorecida nestas situações. Como o ar frio tem menor capacidade de reter água, durante a madrugada a umidade pode elevar-se e trazer problemas para a cultura (GOLD; ROSENTHAL, 1997). Devido a essas características, e pela diversidade de variedades da espécie, a *C. sativa* L. possui potencial para ser cultivada em áreas com diversas altitudes, com exceção de regiões onde as temperaturas são extremamente baixas.

Devido a essas características, e pela diversidade de variedades da espécie, a *Cannabis* spp. possui potencial para ser cultivada em áreas com diversas altitudes, com exceção de regiões onde as temperaturas são extremas. Alguns autores recomendam que a planta não seja cultivada em regiões com altitude superior a 1000m em relação ao nível do mar, pois os processos de maturação e secagem das partes de interesse comercial da planta podem ser comprometidos em plantios localizados nestas regiões (CANNOY, 2015). Ainda segundo *Bosca e Karus* (1998), conforme citado por *Cannoy* (2015), o melhor desenvolvimento da planta ocorre nos cultivos que se localizam a aproximadamente 400m de altitude (CANNOY, 2015).

O processo de caracterização de plantas é descrito por diversos autores como a coleta de dados sobre características hereditárias que variam desde quesitos morfológicos até os marcadores moleculares (DORICE; EPHRAIM; GEORGE, 2020). A compilação dos dados destas características importantes é utilizada para diferenciar espécies, assim como acessos e variedades de uma mesma espécie. Este tipo de trabalho fornece informações importantes, tanto para produtores quanto para melhoristas, contribuindo para a melhor distinção entre fenótipos diferentes e na identificação de plantas mais produtivas e com habilidades para adaptação ao stress ambiental e às mudanças climáticas (DORICE; EPHRAIM; GEORGE, 2020).

Entre os efeitos de tais mudanças podem ser listados o aumento da da concentração de CO₂ na atmosfera e da temperatura global e, conseqüentemente, a elevação do nível do mar, além da mudança dos regimes hídricos, causando escassez de água em algumas regiões e a concentração de fortes chuvas em um curto espaço de tempo em outras, e a salinização dos solos e a desertificação de áreas. (BABAEI; AJDANIAN, 2020; CHANDRA et al., 2008). Tais mudanças

interferem em diversos processos fisiológicos, morfológicos, bioquímicos e moleculares das plantas, como a fotossíntese, causando impacto sobre a distribuição, abundância, crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas. (CHANDRA et al., 2008; GAO et al., 2018).

Devido à sua importância para a medicina e como fonte de matéria prima renovável para dezenas de indústrias de transformação, além da amplitude de regiões em que se cultiva *Cannabis* ssp., é fundamental o desenvolvimento de variedades desta espécie que sejam adaptadas às diversas condições de estresse (BABAEI; AJDANIAN, 2020; CHANDRA et al., 2008; GAO et al., 2018) assim como para as demais culturas agrícolas fundamentais à segurança alimentar mundial, visando minimizar o impacto em relação à produção destas plantas ao longo das próximas décadas.

A caracterização de plantas é considerada uma das áreas prioritárias para a identificação dos caracteres que interferem na produtividade. Essas informações são de grande relevância para que o melhorista possa desenvolver variedades superiores e tolerantes a diferentes fatores de stress. Portanto, a caracterização da diversidade genética será uma das atividades de maior importância para ampliar a produtividade das culturas agrícolas modernas, possibilitando superar os futuros desafios globais relacionados à segurança alimentar da população mundial (DORICE; EPHRAIM; GEORGE, 2020).

Assim como o melhoramento genético é uma ferramenta fundamental para aumentar a produtividade das culturas agrícolas, a disponibilidade de informações sobre a diversidade genética e fenotípica de uma espécie também é crucial para a produção sustentável de alimentos e matéria prima de fontes renováveis (DORICE; EPHRAIM; GEORGE, 2020), ou seja, a produção com preservação de recursos naturais, baixo impacto ambiental, e que viabilize o desenvolvimento social e crescimento econômico.

Caracteres hereditários como características agrônômicas, morfológicas e marcadores moleculares, são fatores muito utilizados para a caracterização de plantas. A classificação de diferentes variedades em grupos com características semelhantes (grupos heteróticos), permite a formação de coleções base,

fundamentais em um programa de melhoramento genético. Através destes trabalhos é possível identificar os obstáculos, recuperar germoplasmas importantes e identificar o potencial da diversidade genética das variedades disponíveis para o estabelecimento e o desenvolvimento de programas de melhoramento genético (DORICE; EPHRAIM; GEORGE, 2020).

Portanto caracterizar as plantas através dos caracteres morfológicos, fisiológicos e agrônômicos é fundamental para obter conhecimento das variedades locais e das que possuem potencial para o uso no melhoramento e desenvolvimento de variedades resistentes e adaptadas às realidades regionais (DORICE; EPHRAIM; GEORGE, 2020).

Além das novas técnicas de melhoramento como a edição gênica, a disponibilidade de acessos e variedades com diferentes níveis de tolerância a estresses bióticos e abióticos, é um fator fundamental para o sucesso de um programa de melhoramento genético. Neste sentido novas técnicas de caracterização, como o uso de marcadores moleculares tem se mostrado promissoras para culturas agrícolas e também regiões produtoras emergentes. Entre os principais fatores utilizados para a caracterização das plantas estão a caracterização agrônômica, bioquímica e fisiológica, a caracterização molecular e a caracterização em relação ao stress hídrico e tolerância à salinidade (DORICE; EPHRAIM; GEORGE, 2020).

Em relação a *C. sativa*, os trabalhos de caracterização e melhoramento genético ainda são incipientes quando comparados aos de outras culturas agrícolas. Pelo fato de o cultivo desta espécie ter permanecido proibido durante as últimas décadas na maior parte do mundo, os trabalhos desenvolvidos nestas áreas foram feitos visando principalmente o mercado ilegal, ou seja, a busca por variedades com altos teores de THC e com uma diversidade de terpenoides. Além disso, a repressão aos cultivos ilegais também dificultou que técnicas e metodologias de melhoramento genético que permitiram grandes ganhos em outras culturas agrícolas pudessem ser utilizadas visando o melhoramento genético de Cannabis (SCHILLING et al., 2021).

Atualmente, com o avanço do processo regulatório dos cultivos desta espécie em vários países com grande aptidão agrícola, principalmente visando o uso

medicinal e industrial das plantas, mais trabalhos que visam caracterizar as variedades disponíveis e desenvolver materiais propagativos superiores para serem cultivados nas regiões de interesse têm sido desenvolvidos. É possível destacar o uso de técnicas de edição gênica (GENETICS, 2022; SEEDS, 2022; SHOSHANNA, 2020) e poliploidia (HEIDI, 2022) que já são utilizadas em materiais comerciais em outros países.

O foco destes trabalhos têm sido explorar o potencial para uso medicinal e terapêutico dos canabinoides e terpenos produzidos pelas plantas, assim como o uso industrial de suas fibras e grãos para diversas indústrias de transformação. Neste sentido, os principais trabalhos publicados visam a caracterização morfológica, fisiológica e genética, com foco no estudo da qualidade das fibras e a composição de canabinoides e terpenoides (CONNELLY et al., 2021; HAJIHA; SAIN; MEI, 2014; KOVUR et al., 2008; MCPARTLAND; SMALL, 2020; NAGY et al., 2019; RAMAN et al., 2017; TROFIN et al., 2012).

Devido à ambiguidade de alguns termos utilizados na classificação botânica da *Cannabis* ainda existem divergências em relação à taxonomia das plantas. Uma revisão feita por *McPartland and Small, 2020* identificou uma análise de metadados de fatores morfológicos, genéticos e fitoquímicos de 1100 acessos reconheceu que as plantas popularmente denominadas de “sativa” e “indica” são tecnicamente consideradas variedades de uma mesma espécie, *C. sativa* subsp. *indica* var. *indica* e *C. sativa* subsp. *indica* var. *afghanica*, respectivamente. Seus ancestrais são *C. sativa* subsp. *indica* var. *himalayensis* (no sul da Ásia) e *C. sativa* subsp. *indica* var. *asperrima* (na Ásia Central). Estas plantas se diferenciavam por fatores morfológicos e a proporção de THC/CBD, assim como a concentração de terpenos. Esses quatro *taxa* representam germoplasmas ameaçados e que deram origem às variedades modernas (MCPARTLAND; SMALL, 2020).

Análises de DNA feitas em variedades para uso medicinal e industrial demonstraram que existe maior variabilidade entre indivíduos da mesma variedade do que entre variedades diferentes, o que reforça a existência de um *pool* genético comum entre as plantas (MCPARTLAND; SMALL, 2020). Estudos que compararam os códigos genéticos de acessos de *C. sativa* e *C. indica* identificaram uma distância

máxima de 0,41% entre eles, o que reforça, além do alto grau de hibridação, a classificação como gênero monoespecífico já que, plantas consideradas da mesma espécie, porém de subespécies ou variedades diferentes, possuem divergência acima de 0,43% em relação aos códigos genéticos. Outros estudos também confirmaram, desta vez com o índice de fixação média (FST), que plantas para uso de fibras e ou de canabinoides possuem valores de FST de 0,156, 0,099 e 0,229, em uma escala de 0 a 1. Estes valores indicam indivíduos intimamente intercruzados e pertencentes à mesma espécie (MCPARTLAND; SMALL, 2020).

Estudos de genética de populações em plantas híbridas modernas denominadas popularmente de “indica” ou “sativa” demonstraram que existe pouca ou nenhuma diferença entre elas. Segundo *Hillig 2005a* e *Gilmore et al. 2007*, estes dados contrastam com estudos feitos entre as décadas de 1970 e 1990 que apresentavam diferenças genéticas claras entre as variedades não domesticadas (MCPARTLAND; SMALL, 2020). De acordo com *Seedfinder 2019*, atualmente termos como “cepa”, “strain” e “genética” são popularmente utilizados como sinônimos de cultivares e uma revisão feita em 2019 apresentou mais de 14.000 acessos registrados (MCPARTLAND; SMALL, 2020). Grande parte destes acessos foi intercruzado resultando a perda de diversidade genética e atualmente os termos populares como “predominantemente sativa” ou “predominantemente indica” já não possuem embasamento técnico. Como resultado algumas variedades populares, como AK-47, já receberam prêmios de melhor variedade sativa no Cannabis Cup de 1999 e melhor indica quatro anos depois (MCPARTLAND; SMALL, 2020).

Os caracteres morfológicos podem ser divididos em qualitativos (ex: flexibilidade do ramo, cor da folha, densidade da inflorescência, densidade dos tricomas glandulares e aderência do perianto) e quantitativos (ex: altura da planta, comprimento dos entrenós, proporção das dimensões da folha, tamanho das sementes) (MCPARTLAND; SMALL, 2020).

Já em relação aos caracteres fitoquímicos relacionados à concentração de canabinoides e terpenoides, geralmente, ao invés da avaliação da quantidade de canabinoides presentes nas plantas, são avaliadas as proporções entre THC e CBD. Esta medida é utilizada já que esta proporção é mais conservadora em comparação

à análise da concentração de THC, que pode variar muito em relação à morfologia, densidade das inflorescências e dos tricomas e tamanho dos mesmos. Essas alterações não interferem na proporção entre as concentrações de THC e CBD, já que esta é uma característica monogênica com codominância alélica, ou determinada por dois genes separados (THCAS e CBDAS) mas estreitamente ligados (MCPARTLAND; SMALL, 2020). Já a expressão da concentração de THC é considerada poligênica, ou seja, é governada por muitos genes que sofrem grande interferência de fatores ambientais (temperatura, luminosidade, disponibilidade de nutrientes e água, entre outro) que contribuem para alterações morfológicas (MCPARTLAND; SMALL, 2020).

Em relação aos canabinoides Tetrahydrocannabivarin (THCV) e Cannabidivarin (CBDV) estes são considerados análogos ao THC e CBD, sendo diferenciados por possuírem uma cauda curta. A rota de biossíntese de THCV E CBDV diverge no início do processo de síntese de canabinoides através da porção relacionada ao resorcinol. É importante ressaltar que algumas pesquisas relacionam os análogos do THC e CBD às proporções de THC/CBD para a classificação dos caracteres fitoquímicos (MCPARTLAND; SMALL, 2020).

Os terpenos e flavonoides compõem os chamados óleos essenciais das plantas e também são utilizados para traçar o perfil de canabinoides de uma variedade, ou seja, a concentração relativa de canabinoides, terpenos e flavonoides de cada variedade. Os terpenoides são compostos voláteis e que estão relacionados às características de aroma das plantas (MCPARTLAND; SMALL, 2020).

Parte dos trabalhos de caracterização são feitos avaliando principalmente a concentração dos diferentes canabinoides e suas proporções em diferentes variedades e órgãos das plantas da espécie. (TROFIN et al., 2012; NAGY et al., 2019). Alguns destes trabalhos também visam caracterizar morfológicamente as estruturas florais e tricomas presentes nas plantas (RAMAN et al., 2017; CONNEELY et al., 2021).

Trabalhos específicos de caracterização de fatores agronômicos, morfológicos e fitoquímicos das plantas de Cannabis vêm sendo realizados com maior frequência nos últimos anos devido ao crescimento representativo dos cultivos e,

consequentemente, do mercado relacionado à esta matéria prima. O cultivo de uma variedade com predominância na concentração de THCA em comparação ao CBDA e uma com a relação oposta demonstrou que as variedades ricas em THCA possuem maior taxa de germinação de sementes, maior taxa de crescimento e floração mais precoce em comparação com variedades ricas em CBDA (YOSHIMATSU et al., 2004).

A falta de trabalhos que visem a caracterização da planta tem despertado o interesse de pesquisadores de todo o mundo que enxergam essa lacuna como um grande obstáculo ao melhoramento genético da espécie visando sistemas produtivos eficientes. Em um estudo que avaliou os fatores agronômicos de 30 variedades para uso industrial, cultivadas em dois locais distintos, caracterizando a produtividade, a performance agrônômica, a resistência às pragas, o tempo de floração e o acúmulo de canabinoides foram observadas variações significativas tanto entre as variedades quanto em relação às plantas das mesmas variedades. As variedades foram separadas em 5 grupos distintos e foram observadas variações nas taxas de crescimento e duração do ciclo, sensibilidade ao fotoperíodo, assim como na proporção da concentração dos canabinoides e na incidência de pragas e produtividade (STACK et al., 2021).

Trabalhos anteriores, buscaram caracterizar as plantas e encontrar relações entre fatores químicos e não químicos com o conteúdo de canabinoides das mesmas (DE MEIJER; VAN DER KAMP; VAN EEUWIJK, 1992). Embora os autores tenham encontrado relação limitada entre estes fatores, identificou-se que a largura da folha e o comportamento fenológico ao longo do ano podem ser utilizados como uma referência para a predição do perfil químico das mesmas a nível de população. Ao todo foram analisados 23 caracteres não químicos, entre morfológicos, fenológicos e agronômicos e estes foram avaliados em combinação com o conteúdo de canabinoides de 97 acessos de Cannabis (DE MEIJER; VAN DER KAMP; VAN EEUWIJK, 1992).

A caracterização visando trabalhos de melhoramento para o desenvolvimento de plantas para uso de suas fibras tem foco, geralmente, na caracterização morfológica e química das mesmas.

O uso de fibras vegetais de origem não madeireira é uma opção de fonte de polpa para a produção de diversos tipos de papel. Nos países em desenvolvimento este material é utilizado para os mais diversos fins devido à falta de fontes de fibras madeireiras, enquanto nos países desenvolvidos o uso prioritário é para produtos com alto valor agregado (GUTIÉRREZ; RODRÍGUEZ; DEL RÍO, 2006).

A lignina e os lipídios estão entre os compostos que têm maior influência na produção da polpa, isso porque os lipídios liberados das fibras podem ficar aderidos à polpa ou ao maquinário de processamento, causando problemas na linha de produção, enquanto a lignina é uma das principais variáveis relacionadas à qualidade do papel. Alguns extrativos presentes nas fibras podem tornar os efluentes da polpa e o produto final tóxicos e este ponto é extremamente importante no caso da Cannabis (GUTIÉRREZ; RODRÍGUEZ; DEL RÍO, 2006).

Os trabalhos de caracterização das fibras de Cannabis geralmente buscam avaliar a qualidade de duas porções de fibras, separando as de menor e maior espessura e avaliando a estrutura celular das mesmas após diferentes métodos de separação (KOVUR et al., 2008). Algumas características gerais utilizadas na caracterização das fibras das plantas desta espécie são os teores de celulose, lignina, hemicelulose pectina e cera (HAJIHA; SAIN; MEI, 2014).

Especificamente para trabalhos de caracterização da diversidade genética de Cannabis, métodos de genética molecular como o sequenciamento de DNA e marcadores moleculares são atualmente utilizados e direcionam os programas de melhoramento genético propriamente dito. Tais técnicas permitem inferir com maior precisão a distância genética entre dois indivíduos, permitindo uma classificação precisa em relação à caracterização de variedades em grupos heteróticos (MCPARTLAND; SMALL, 2020).

Como atualmente existe uma grande dificuldade em encontrar acessos de ancestrais selvagens, não domesticados, ou landraces de Cannabis, ou seja, materiais que não passaram por um processo intenso de hibridização, os estudos de genética molecular sobre Cannabis são limitados. Mesmo com a existência de germoplasmas importantes e representativos, como os existentes no Sul e na região

central da Ásia, os estudos neste sentido ainda precisam ser mais explorados (MCPARTLAND; SMALL, 2020; TORKAMANEH, DAVOUD; JONES, 2021).

2. CAPÍTULO DOIS: OBJETIVOS E METODOLOGIA

2.1. Objetivos

2.1.1. Objetivo Geral:

Caracterizar, de acordo com o comportamento agrônomo e características físico químicas, diferentes variedades de *Cannabis sativa* L. cultivadas em ambiente protegido, agrupando-as através da estimativa da divergência genética entre as mesmas.

2.1.2. Objetivos Específicos:

- Descrever o desenvolvimento fenológico das plantas;
- Caracterizar as plantas morfológicamente;
- Identificar a concentração dos principais canabinoides das plantas;
- Caracterizar as fibras química e morfológicamente;
- Subsidiar dados e material genético para dar início ao primeiro banco de germoplasma da espécie no Brasil;
- Realizar cruzamentos para obtenção de progênies.

2.2. Materiais e Métodos

2.2.1. Cultivo

Foram cultivadas ao longo do segundo semestre de 2020 quatro diferentes variedades de *Cannabis sativa* L. em uma casa de vegetação disponibilizada pelo Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa. Foram avaliados tanto quesitos morfológicos e fenológicos, quanto quesitos químicos relacionados às fibras e canabinoides, que estão detalhados a seguir, para que as variedades fossem caracterizadas visando experimentos futuros de melhoramento genético.

Neste trabalho o cultivo foi realizado em ambiente protegido por questões de segurança e garantia de controle de acesso. A estrutura do espaço é de vidro, possui área de aproximadamente 100m², não possuía sistema de ventilação forçada e irrigação, que foram instalados posteriormente ao experimento apresentado, e está localizada a aproximadamente 649m acima do nível do mar. O local possui iluminação suplementar fornecida através de lâmpadas de led de 50W que permaneceram ligadas entre 17:00 horas e 23:59 horas ao longo dos três primeiros meses de cultivo para completar o fotoperíodo necessário para manter as plantas na fase vegetativo, totalizando 14 horas de luz e 10 horas de escuro (YOSHIMATSU et al., 2004; TAIZ; ZEIGER, 2006). Foram utilizadas 36 lâmpadas, totalizando 1.800 joules/s de energia radiante, em suplementação a luz solar. Após esse período a iluminação suplementar foi desligada para induzir as plantas ao florescimento. O clima predominante na região é classificado como subtropical de inverno seco (com temperaturas inferiores a 18°C) e verão quente (com temperaturas superiores a 22°C). A temperatura média é de 20.4°C e a pluviosidade média anual é de 1251 mm.

Os dados climáticos no interior da casa de vegetação estão apresentados na tabela 2.



Foto 1: Casa de vegetação do Departamento de Agronomia (DAA). Fonte: próprio autor.



Foto 2: Interior da casa de vegetação do Departamento de Agronomia (DAA). Fonte: próprio autor.

Neste experimento foram avaliadas quatro variedades distintas, disponibilizadas pela empresa ADWA Cannabis, cujo diretor possui autorização para importar, portar e cultivar sementes e plantas. As sementes foram doadas ao responsável em eventos ocorridos em território nacional.

As variedades são popularmente denominadas como CDxDES-23 (A1), Fedora (A2), Black Kali (A3) e Odalisca Cheese (A4). Duas delas têm origem europeia (A1 e A2), com aptidão para cultivo em regiões temperadas, a variedade A2 previamente classificada como cânhamo, popularmente cultivada ao longo dos anos nos países cujo cultivo não foi proibido e provavelmente originária da Itália e a variedade A1, utilizada para fins medicinais e adulto, também chamado popularmente de recreativo, desenvolvida na França. A terceira variedade tem origem colombiana (A3), utilizada para fins medicinais e adulto. A quarta variedade foi obtida através de um cruzamento feito no Brasil por um paciente que faz uso de cannabis medicinal (A4). Os genitores desta variedade foram duas plantas também de origem europeia. Apenas uma das variedades foi classificada previamente como

cânhamo (A2). Foram semeadas 15 sementes de cada uma das quatro variedades disponíveis.

As sementes foram semeadas em sacos plásticos com volume de 3,5 litros e posteriormente transplantadas para vasos plásticos de 20 litros. Foi utilizada uma mistura de dois substratos comerciais (Bioplant e Macplant) na proporção de 2:1, de acordo com o disponibilizado pelo Programa de Pós Graduação. As plantas foram regadas individualmente com o uso de um regador e receberam em média 800ml de água por dia ao longo de todo o ciclo. Estes valores foram adaptados de trabalhos publicados anteriormente (HALL; BHATTARAI; MIDMORE, 2014; HERNÁNDEZ, 2014; TANG et al., 2016). Nas duas últimas semanas a irrigação foi suspensa já que um ligeiro déficit hídrico tende a aumentar a concentração dos canabinoides (CAPLAN; DIXON; ZHENG, 2019).



Fotos 3 e 4: Semeadura das variedades. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.



Foto 5: Plântulas após germinação das sementes. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.



Fotos 6 e 7: Muda com primeiro par de folhas e mudas após 20 dias de semeadura. Fontes: Davi Pinho/ADWA Cannabis e próprio autor.



Fotos 8 e 9: Variedades A2 e A3 após transplante definitivo, com detalhe do antigo sistema de aquecimento e circulação de ar da casa de vegetação. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.



Fotos 10 e 11: Irrigação das plântulas e mudas. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.

A fertilização foi adaptada de trabalhos de *Williams* 2018; *Bernstein* et al. 2019 e *Cockson* et al. 2019. Durante a primeira metade da fase vegetativa (aproximadamente 45 dias) as plantas receberam fertilização através da irrigação com as seguintes doses: 150 kg/ha de N, 20 kg/ha de P e 80 kg/ha de K parceladas semanalmente. Na segunda metade da fase vegetativa (aproximadamente 45 dias) as plantas receberam 225 kg/ha de N, 20 kg/ha de P e 80 kg/ha de K também parcelado semanalmente via fertirrigação. Durante a fase de floração (aproximadamente 90 dias) a dose aplicada foi 225 kg/ha de N, 40 kg/ha de P e 140 kg/ha de K parcelada semanalmente.



Foto 12: Pesagem dos fertilizantes. Fonte: próprio autor.

As plantas foram semeadas nos sacos plásticos no dia 02 de setembro de 2020, onde permaneceram por 15 dias antes do transplante definitivo para os vasos. As repetições de cada variedade foram cultivadas agrupadas, cada planta foi mantida na mesma posição dentro do grupo, mantendo o mesmo espaçamento para todas as plantas. Os grupos foram rotacionados dentro da casa de vegetação a cada 15 dias, o que permitiu a análise estatística em DIC.

Após 3 meses as lâmpadas da iluminação suplementar foram desligadas para induzir a floração das plantas, já que se tratam de plantas de dia curto (YOSHIMATSU et al., 2004; TAIZ; ZEIGER, 2006). Assim que as plantas indicaram o início da floração, com o objetivo de induzir a produção de pólen por plantas fêmeas visando a autofecundação das mesmas, foi aplicado tiosulfato de prata na concentração de 100 μg (LUBELL; BRAND, 2018; MENU; AKCEPTUJESZ, 2018) em 3 ramos aleatórios de cada planta fêmea. Estes ramos foram cobertos com sacos de papel kraft para evitar a polinização cruzada, técnica também utilizada em outras culturas como milho.



Foto 13: Casa de vegetação com luzes suplementares acesas para completar o fotoperíodo da fase vegetativa. Fonte: próprio autor.



Foto 14: Variedade A1 em estágio vegetativo. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.



Foto 15: Flores masculinas, femininas e início de formação de sementes da variedade A2. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.



Foto 16: Início do desenvolvimento das flores femininas da variedade A3. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.

Todas as plantas foram colhidas individualmente. As plantas masculinas e monoicas foram colhidas no dia 25 de janeiro de 2021, no início da senescência das plantas masculinas, que ocorreu antes do ponto de colheita das plantas fêmeas, e no momento em que as sementes das plantas monoicas estavam, aparentemente, desenvolvidas pelo aspecto das brácteas que começavam a se abrir. As plantas fêmeas foram colhidas no dia 08 de março de 2021 quando as sementes estavam firmes. Posteriormente à colheita, os caules e ramos foram separados das folhas, flores e sementes. O material foi pesado e colocado para secar em uma estufa, no laboratório do TecnoParq UFV, com ventilação forçada à 21°C por 15 dias (KIRAN et al., 2020). Após a secagem o material foi pesado novamente. Foi retirada uma amostra das flores das plantas fêmeas para a análise da concentração de canabinoides e os caules e ramos foram enviados para o Laboratório de Celulose e Papel (LCP) da UFV para a análise qualitativa das fibras. As sementes foram catalogadas e armazenadas para uso nos próximos experimentos.

2.2.2. Coleta de dados biométricos

Para a análise biométrica foram avaliados as seguintes variáveis das plantas: altura da planta (ALT), diâmetro da copa no terço médio da planta (DC), comprimento internodal (CME), nº de nós do caule (NR), comprimento do ramo no terço médio da planta (CR), número de nós no ramo do terço médio da planta (NSR), diâmetro do coleto (DCC), diâmetro do caule no 4º nó (DC4), diâmetro do caule no 8º nó (DC8). Os dados biométricos foram coletados semanalmente e os dados climáticos (temperatura e umidade relativa do ar internas e externas) diariamente. A incidência de pragas e outros eventos foram anotados para fins observacionais à medida que foram identificados (DE MEIJER; VAN DER KAMP; VAN EEUWIJK, 1992; YOSHIMATSU et al., 2004).

Após a colheita foram avaliados os seguintes dados de produtividade: peso de massa fresca total (MFTOT); peso de massa fresca dos caules e ramos (MFRC); peso de massa fresca das folhas e flores (MFFF); peso da massa seca total (MST); peso da massa seca dos caules e ramos (MSCR); peso da massa seca das folhas e flores (MSFF).



Foto 17: Aferição do diâmetro do caule. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.



Fotos 18 e 19: Aferição do diâmetro do caule e altura da planta. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.

O desenvolvimento fenológico das plantas foi acompanhado segundo os códigos propostos por Mediavilla et al., 1998, e relacionado à metodologia de Graus Dia (GD) já utilizada para outras culturas agrícolas (BENTO; CAMARGO; BRUNINI, 1987; RENATO et al., 2013). Para cada variedade foram avaliadas as variáveis apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Variáveis para avaliação do desenvolvimento fenológico e características físico-químicas das fibras

Dias até a emergência de 50% das plântulas	DAE
Dias até a indução floral em 50% das plantas	DIF
Dias até a abertura de 50% das flores em 50% das plantas	DAF
Duração da floração: dias entre o dia da indução floral em 50 % das plantas até o dia da abertura de 50% das flores em 50% das plantas	DF
Dias até a maturação de 50% das sementes em 50% das plantas fêmeas ou monoicas	DMS
Duração da fase reprodutiva: dias entre a abertura de 50% das flores de 50% das plantas até o dia da maturação de 50% das sementes em 50% das plantas fêmeas ou monoicas	DR
Duração do ciclo: dias entre a emergência de 50% das plântulas e a maturação de 50% das sementes em 50% das plantas fêmeas ou monoicas	DC
Índice de crescimento	IC
Graus dia acumulados para DAE	GDDAE
Graus dia acumulados para DIF	GD.DIF
Graus dia acumulados para DAF	GD.DAF
Graus dia acumulados para DF	GD.DF
Graus dia acumulados para DMS	GD.DMS
Graus dia acumulados para DR	GD.DR
Graus dia acumulados para DC	GDDC
Comprimento médio ISO ponderado (mm)	CMISO
Largura média ISO ponderada (μm)	LMISO
Coarseness (mg/m)	COAR
Nº de fibras ISO (mg)	FBISO
Percentual de finos A	FINOSA
Percentual de finos B	FINOSB
CWT em μm (CWT)	CWT
Extrativos totais (%)	EXT
Urônicos (%)	URO
Lignina solúvel (%)	LIGSOL
Lignina insolúvel (%)	LIGINS
Total de lignina (%)	TLIG
Arabinose (%)	ARA
Galactose (%)	GAL
Glicose (%)	GLIC
Xilose (%)	XIL
Manose (%)	MAN

Fonte: adaptado de DE MEIJER; VAN DER KAMP; VAN EEUWIJK, 1992; Mediavilla et al., 1998 e BENTO; CAMARGO; BRUNINI, 1987; RENATO et al., 2013.



Foto 20: Variedades A1 durante a fase vegetativa. Fonte: Davi Pinho/ADWA Cannabis.

2.2.3. Análise canabinoides

As amostras das flores femininas e monoicas, após secas, foram analisadas com o uso de um espectrômetro NIR, modelo profissional da marca Gemmacert certificado pelo acordo de reconhecimento mútuo da ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation) e pelo ISRAC (Israel Laboratory Accreditation Authority). O equipamento foi adquirido pela empresa ADWA Cannabis para realizar as análises das concentrações de THC (delta9-tetrahydrocannabinol) e de CBD (canabidiol) em % por grama de massa seca através da incidência, absorvância ou reflexão de luz infravermelha próxima sobre a amostra. As análises foram feitas em triplicata no laboratório do TecnoPARQ UFV (GEMMACERT, 2017).



Foto 21: Equipamento Gemmacert utilizado para as análises da concentração de canabinoides. Fonte: Nicole Oliveira/ADWA Cannabis.

2.2.4. Análise de Fibras

Devido à reduzida quantidade de material vegetal, os caules e ramos das plantas das mesmas variedades foram misturados e homogeneizados para que as análises químicas e morfológicas das fibras pudessem ser realizadas. As análises foram realizadas pelo Laboratório de Celulose e Papel (LCP) UFV seguindo as normas e metodologias internas do LCP de acordo com as metodologias citadas na Tabela 2.

Para a caracterização química das fibras, inicialmente foi realizada a extração orgânica para a retirada dos extrativos. Posteriormente foi utilizado equipamento

REGMEG para cozimento e avaliação das variáveis apresentadas na tabela 1. As amostras foram analisadas em duplicata. A metodologia utilizada foi adaptada com referência nas metodologias descritas na tabela 2.

Tabela 2: Metodologias para análises químicas das fibras

Análise	Método
Extrativos totais	TAPPI T 264 cm-97
Lignina insolúvel	TAPPI T222 cm-11
Lignina solúvel	Goldschimid (1971)
Hidrólise ácida	TAPPI T 249 cm-85
Composição de carboidratos	WALLIS et al. (1996)
Ácidos urônicos	SCOOT (1979)

Fonte: Laboratório de Celulose e Papel (LCP) UFV.

As análises morfológicas foram realizadas com utilização do equipamento VALMET FS5 ANALYZER, que utiliza inteligência artificial e tecnologia ultra HD para análise das fibras. Os resultados são obtidos através de uma amostra do material fibroso em suspensão em água desmineralizada. Foram pesadas amostras equivalentes a 30 mg de polpa seca, tendo a suspensão um volume total de 500 ml, de acordo com as condições exigidas pelo equipamento. Todos os testes foram realizados com duas repetições, sendo considerado o valor médio das mesmas.

As variáveis utilizadas para as análises morfológicas das fibras estão apresentadas na tabela 1. Para a análise do teor de Finos A foram considerados materiais com dimensões de comprimento $\leq 0,20$ mm. Para o teor de Finos B foram considerados materiais com dimensões de comprimento superior a 0,20 mm e com largura inferior a 10 μm . A análise do comprimento de fibra considerou materiais com dimensões de comprimento entre 0,20 a 7,00 mm, conforme definido pela norma ISO 16065-2.

2.2.5. Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise multivariada (MANOVA) para posterior estimativa da divergência genética através de agrupamentos hierárquicos obtidos

pela distância de Mahalanobis (D^2) pelo método Tocher. O processamento dos dados foi feito utilizando o software SAEG versão 9.1, e software R.

A partir da análise dos dados obtidos as variedades foram agrupadas de acordo com a divergência genética entre elas. Os resultados obtidos estão apresentados a seguir.

3. CAPÍTULO TRÊS: RESULTADOS E DISCUSSÃO

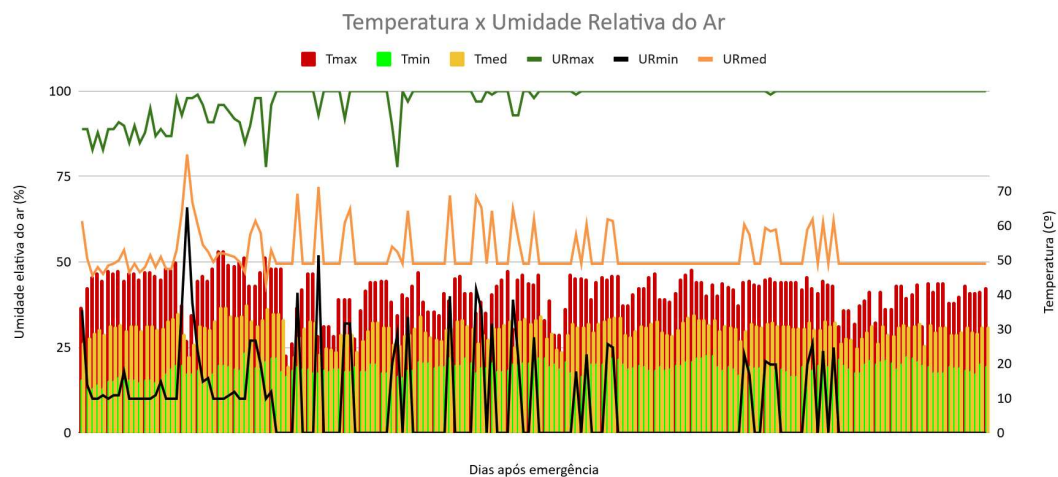
3.1. Resultados

3.1.1. Análise biométrica e comportamento agrônômico

Neste trabalho preconizou-se o uso de métodos de análises multivariadas e agrupamentos, já que estes permitem, além da avaliação dos grupos divergentes, prever os cruzamentos promissores entre os grupos mais distantes e otimizar as coleções dos bancos de germoplasmas (DIAS; KAGEYAMA, 1998).

O gráfico 1 apresenta os valores médios, máximos e mínimos da temperatura e umidade relativa do ar ao longo do cultivo no interior da casa de vegetação.

Gráfico 1: Temperatura e umidade relativa do ar ao longo do cultivo.



Fonte: dados da pesquisa.

A primeira caracterização feita foi a diferenciação entre plantas monoicas e plantas dioicas. Apenas a variedade A2 apresentou indivíduos com flores masculinas e inflorescências femininas nas mesmas plantas. Todas as demais variedades apresentaram dioicia predominante (tabela 3).

Tabela 3: Percentual de plantas por sexo por variedade.

Variedade	% machos	% fêmeas	%monoicas
A1	60,00	40,00	0,00
A2	0,00	0,00	100,00
A3	58,33	41,67	0,00
A4	42,86	57,14	0,00

Fonte: dados da pesquisa.

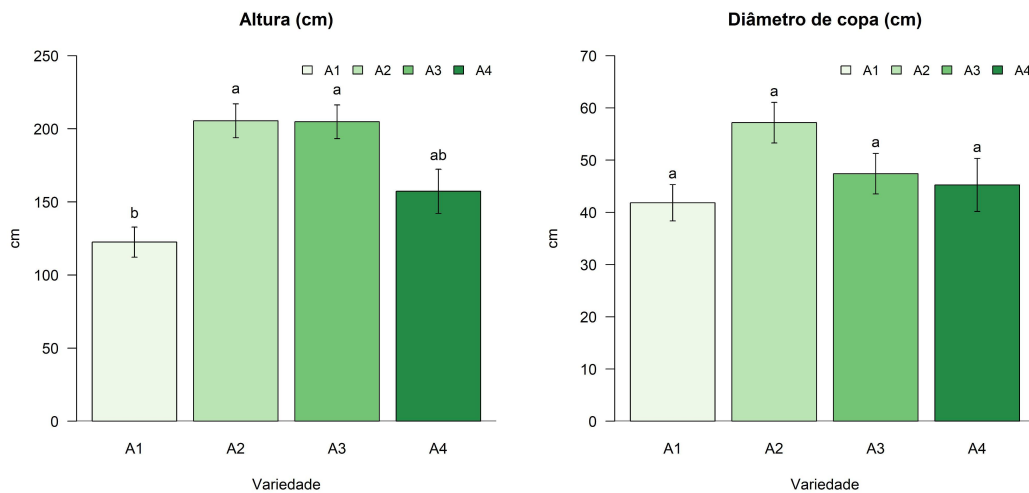
Os valores médios das variáveis biométricas avaliadas estão apresentados na tabela 4 e nos gráficos de 2 a 10.

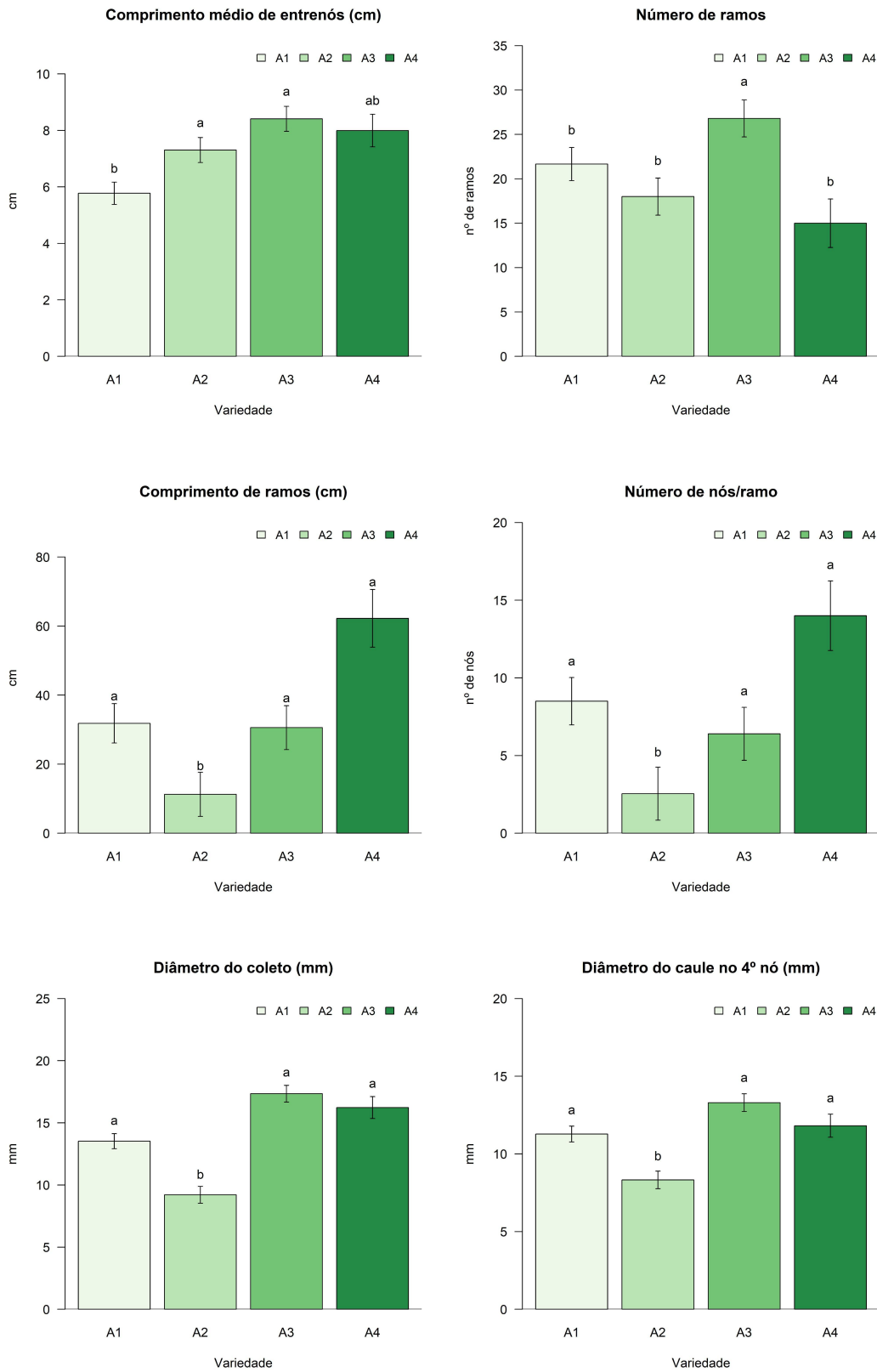
Tabela 4: Valores médios de ALT, DC, CME, NR, CR, NR, NSR, DCC, DC4 e DC8, por variedade, obtidos antes da colheita. Teste Tukey à 5% de probabilidade..

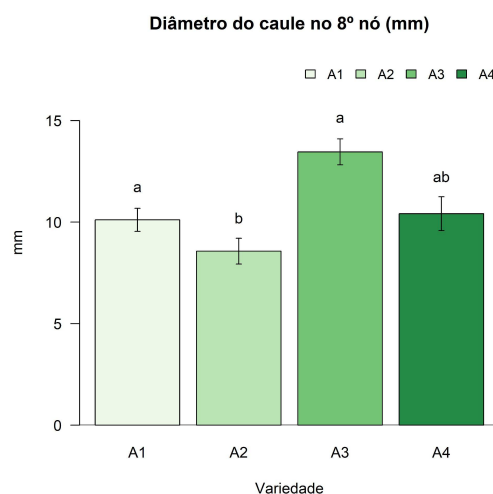
VAR	ALT (cm)	DC (cm)	CME (cm)	NR	CR (cm)	NSR	DCC (mm)	DC4 (mm)	DC8 (mm)
A1	130,33b	46,13ns	5,74b	19,86b	36,53a	9,86a	14,79a	12,09a	11,23a
A2	202,33a	55,33ns	7,35a	17,66b	11,83b	2,66b	9,08b	8,31b	8,53b
A3	202,75a	49,75ns	8,40a	27,50a	40,25a	9,50a	16,70a	13,59a	13,11a
A4	171,71ab	46,86ns	7,44ab	16,28b	48,00a	11,57a	15,18a	11,71a	10,35ab

Fonte: dados da pesquisa.

Gráficos de 2 a 10: Valores médios para os dados biométricos por variedade.







Fonte: dados da pesquisa.

A partir da avaliação das variáveis biométricas as variedades foram classificadas em 3 grupos de acordo com a estimativa da divergência genética entre as mesmas. A tabela 5 apresenta o agrupamento e a contribuição relativa de cada variável para o mesmo.

Tabela 5: Agrupamento das variedades, e estimativa da contribuição relativa das variáveis (ALT, DC, CME, NR, CR, NR, NSR, DCC, DC4 e DC8) pelo método proposto por Singh, baseado na Distância de Mahalanobis.

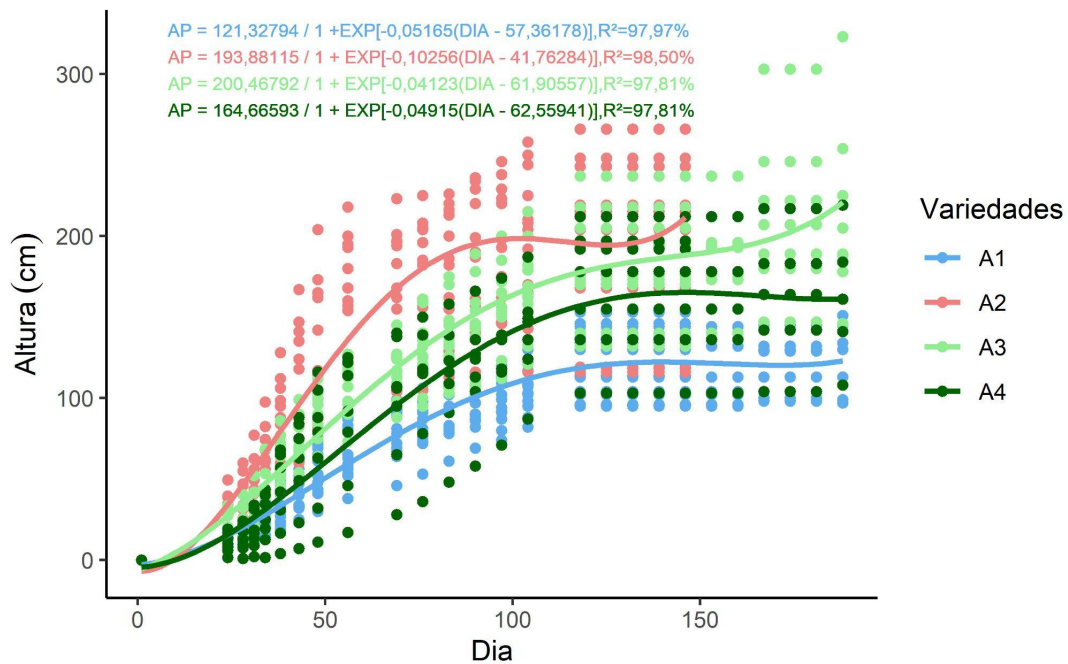
Grupo	Variedades	Variável	Contribuição (%)
1	A2, A3	ALT	0
2	A1	DC	33,33
3	A4	CME	0
		NR	33,33
		CR	0
		NSR	33,33
		DCC	0
		DC4	0
		DC8	0

Fonte: dados da pesquisa.

A partir dos dados de altura de planta coletados ao longo de todo o cultivo foi realizado o ajuste da regressão não linear para o cálculo do índice de crescimento (IC) que retornou as equações apresentadas no gráfico 11 para cada uma das variedades. A variedade A2 apresentou o maior valor para o coeficiente “B” da

equação, que representa o grau de inclinação da curva, apresentando a maior velocidade de crescimento até atingir a altura final em comparação às demais variedades.

Gráfico 11: Índice de crescimento (IC) por variedade.



Fonte: dados da pesquisa.

Os valores médios para a duração dos ciclos e das fases fenológicas de cada variedade estão apresentados em dias na tabela 6 e em graus dia na tabela 7 e nos gráficos de 12 a 17. A ANOVA foi feita apenas para os dados apresentados em Graus dia (GD) devido a maior precisão desta variável em relação ao desenvolvimento das plantas.

Com exceção do acúmulo de graus dia durante a fase reprodutiva, a variedade A2 apresentou os menores valores para acúmulo térmico tanto em relação ao ciclo completo das plantas, quanto em relação às demais fases fenológicas avaliadas.

Em relação ao acúmulo de graus dia para completar todo o ciclo, as variedades A1, A3 e A4 apresentaram valores semelhantes, sendo que a variedade A3 apresentou a fase vegetativa mais longa representado pelos dados de acúmulo de graus dias até a indução da floração, assim como até a o momento de abertura

das flores e da maturação das sementes. Em contrapartida essa mesma variedade apresentou o menor acúmulo térmico para completar a fase reprodutiva (tabela 7 e gráficos 13, 14 e 16).

Tabela 6: Duração do ciclo, em dias, por fase fenológica (DC, DAE, DIF, DAF, DF, DMS, DR).

VAR	DC	DAE	DIF	DAF	DF	DMS	DR
A1	164,60	5,00	70,80	130,56	60,00	155,00	24,00
A2	145,00	5,00	43,08	67,25	24,00	97,00	30,00
A3	173,00	5,00	77,58	155,75	78,00	171,00	16,00
A4	175,00	6,00	63,43	143,00	80,00	163,00	20,00

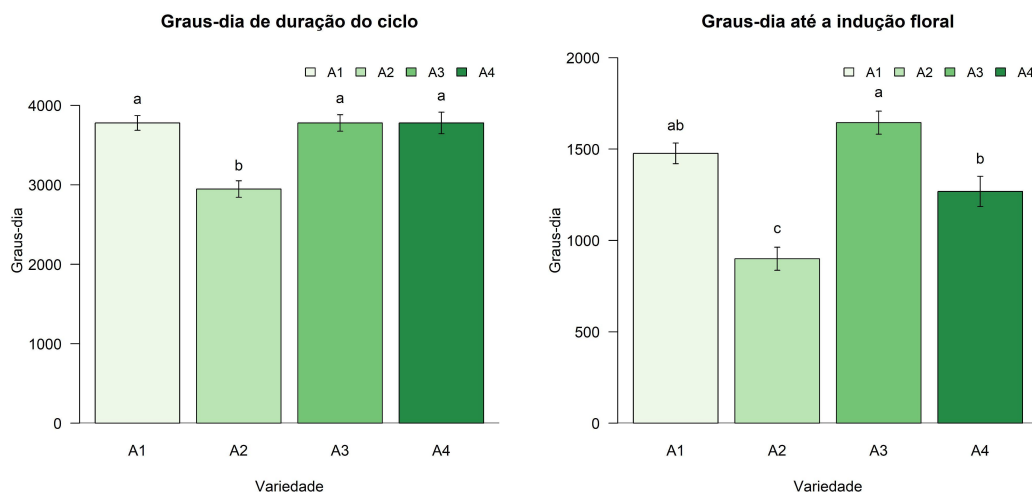
Fonte: dados da pesquisa.

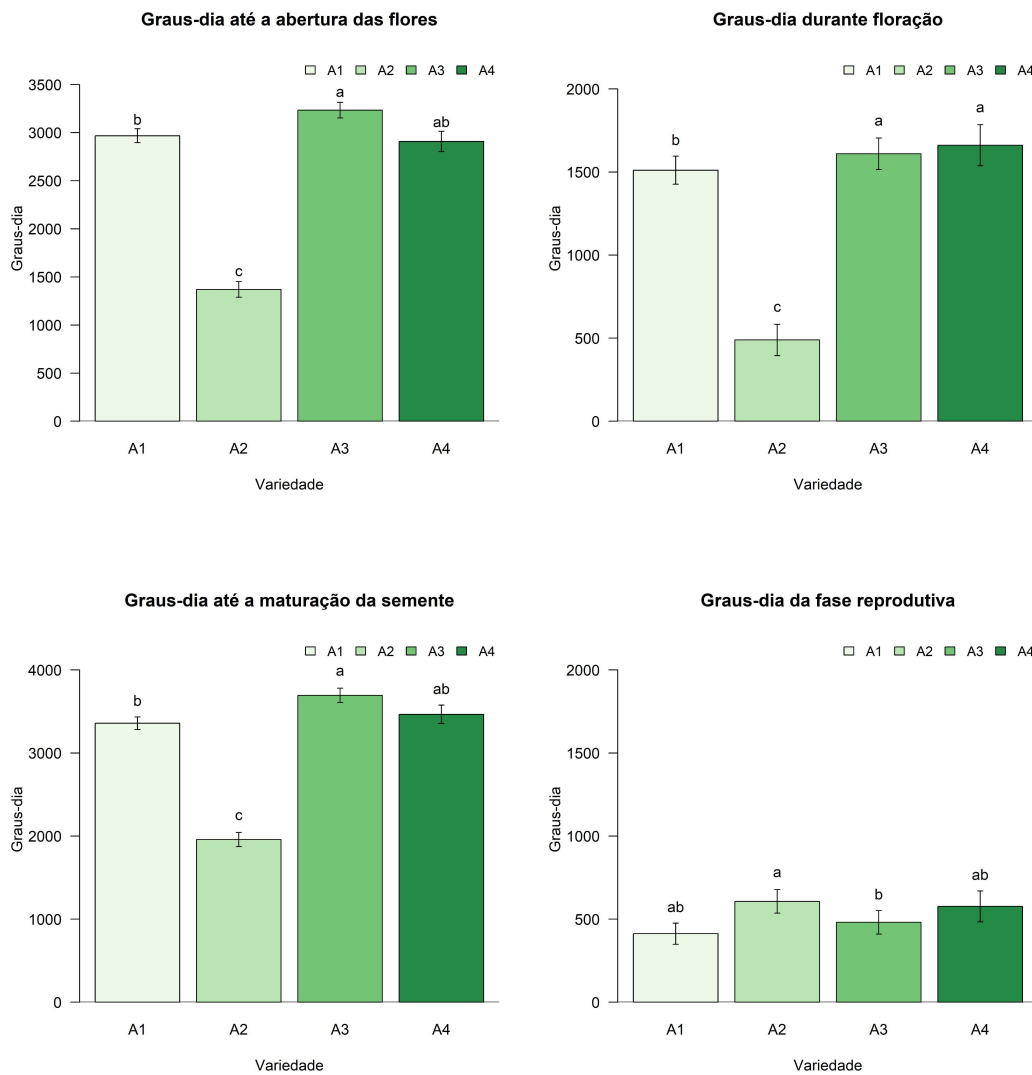
Tabela 7: Graus dia acumulado por fase fenológica (GDDC, GDDAE, GD.DIF, GD.DAF, GD.DF, GD.DMS, GD.DR). Teste Tukey a 5% de probabilidade.

VAR	GDDC	GDDAE	GD.DIF	GD.DAF	GD.DF	GD.DMS	GD.DR
A1	3334,53a	91,40ns	1416,77ab	2640,57b	1243,87b	3138,48b	519,13ab
A2	2946,10b	91,40ns	898,09c	1348,52c	468,69c	1942,91c	613,76a
A3	3501,00a	91,40ns	1553,71a	3157,23a	1623,65a	3465,99a	321,90b
A4	3540,63a	112,45ns	1271,59b	2903,41ab	1651,98a	3301,70ab	415,35ab

Fonte: dados da pesquisa.

Gráficos de 12 a 17: Valores médios para o acúmulo de graus dia por fase fenológica por variedade.





Fonte: dados da pesquisa.

Em relação à duração dos ciclos e das fases fenológicas as variedades foram agrupadas de acordo com a estimativa da divergência genética entre elas. Na tabela 8 estão apresentados o agrupamento e a contribuição relativa das variáveis para o mesmo.

Tabela 8: Agrupamento das variedades por duração do ciclo e graus dias acumulados por fases fenológicas, e estimativa da contribuição relativa das variáveis (DC, DAE, DIF, DAF, DF, DMS, DR, GDDC, GDDAE, GD.DIF, GD.DAF, GD.DF, GD.DMS, GD.DR) pelo método proposto por Singh, baseado na Distância de Mahalanobis.

Grupo	Variedades	Variável	Contribuição (%)
1	A3, A4, A1	DC	0
2	A2	DAE	0
		DIF	16,7
		DAF	0
		DF	0
		DAMS	0
		DR	33,3
		GDDC	0
		GDDAE	0
		GD.DIF	16,7
		GD.DAF	0
		GD.DF	0
		GD.DMS	0
		GD.DR	33,3

Fonte: dados da pesquisa.

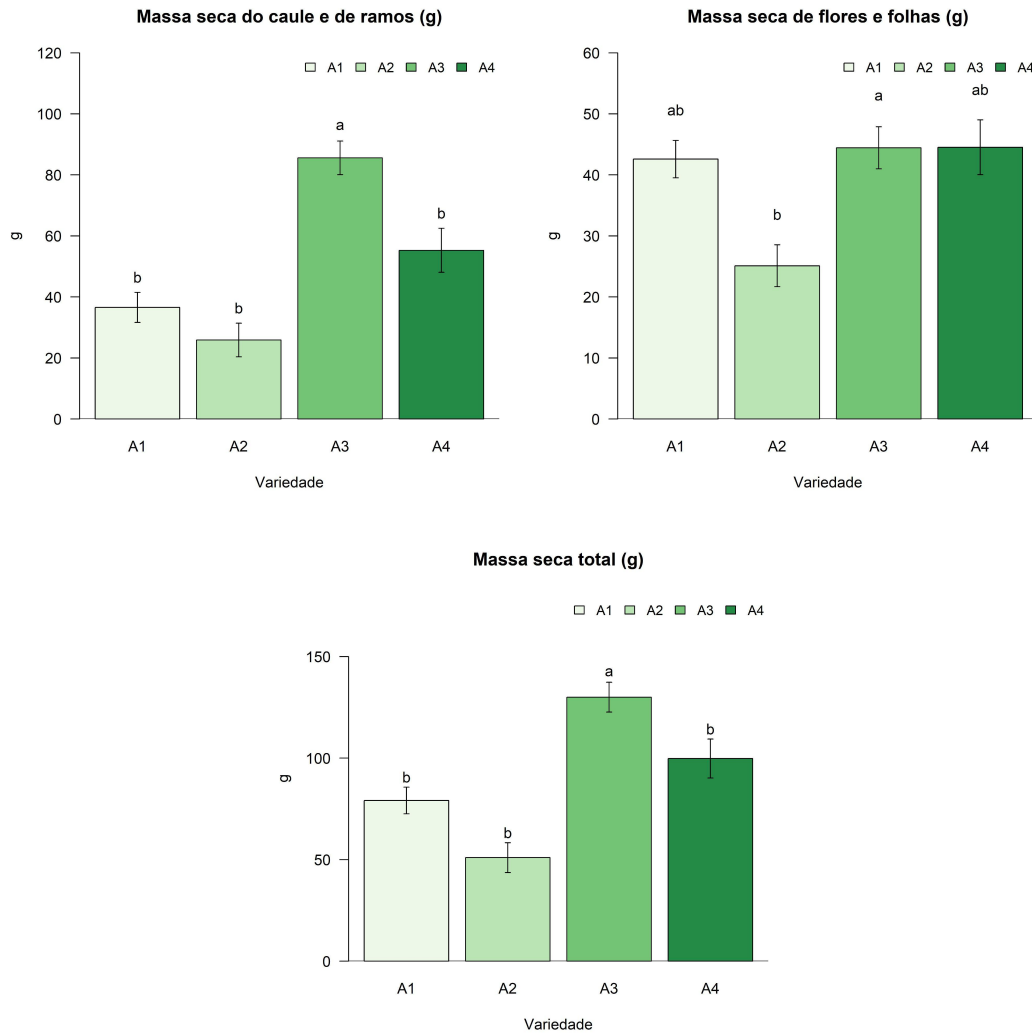
A tabela 9 contém os valores médios relacionados à produtividade, ou seja, referentes a massa fresca e massa seca por partes das plantas, de acordo com cada variedade. Os gráficos de 18 a 20 apresentam a comparação dos valores médios para os dados referentes à massa seca por partes das plantas por variedade. A partir da contribuição relativa de cada uma das variáveis as variedades foram classificadas em 2 grupos (tabela 10) de acordo com a estimativa da divergência genética entre elas.

Tabela 9: Peso de massa fresca total (MFTOT); peso de massa fresca dos caules e ramos (MFRC); peso de massa fresca das folhas e flores (MFFF); peso da massa seca total (MST); peso da massa seca dos caules e ramos (MSCR); peso da massa seca das folhas e flores (MSFF) por variedade. Teste Tukey a 5% de probabilidade.

VAR	MFTOT	MFRC	MFFF	MST	MSCR	MSFF
				(g)		
A1	142,37b	84,13b	57,02b	72,92b	40,98b	31,93ab
A2	77,68c	43,03c	34,26c	51,38b	25,69b	25,69b
A3	275,81a	190,76a	83,52a	131,24a	92,04a	39,20a
A4	160,92b	96,72b	63,32ab	82,98b	46,64b	36,34ab

Fonte: dados da pesquisa.

Gráficos 18 a 20: Valores médios de produtividade de massa seca por variedade.



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 10: Agrupamento das variedades por produtividade, e estimativa da contribuição relativa das variáveis (peso de massa fresca total (MFTOT); peso de massa fresca dos caules e ramos (MFRC); peso de massa fresca das folhas e flores (MFFF); peso da massa seca total (MST); peso da massa seca dos caules e ramos (MSCR); peso da massa seca das folhas e flores (MSFF) pelo método proposto por Singh, baseado na Distância de Mahalanobis.

Grupo	Variedades	Variável	Contribuição (%)
1	A1, A4, A2	MFTOT	0
2	A3	MFRC	0
		MFFF	16,7
		MST	0
		MSCR	50
		MSFF	33,3

Fonte: dados da pesquisa.

A variedade A3 apresentou os maiores valores médios para produtividade, tanto em relação à massa seca, quanto à massa fresca para todas as partes das plantas (tabela 9 e gráficos 18 a 20). A massa fresca apresentou maior diferença entre esta variedade e as demais quando comparada com a diferença referente aos valores médios de massa seca, que não apresentou a mesma variação.

3.1.2. Análise dos canabinoides

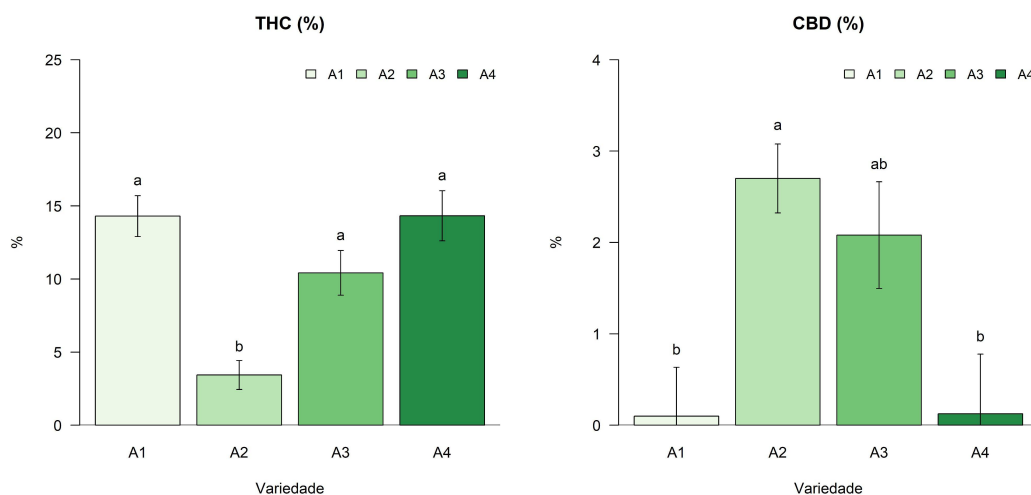
O acúmulo de canabinoides foi determinado com base no valor médio da concentração de THC e CBD nas amostras das inflorescências femininas das diferentes variedades. A partir da avaliação da concentração de canabinoides (tabela 11) as variedades foram classificadas em dois grupos de acordo com a estimativa da divergência genética entre elas. O agrupamento e a contribuição relativa de cada uma das variáveis para o mesmo estão apresentados na tabela 12.

Tabela 11: Concentração de canabinoides por variedade. Teste Tukey a 5% de probabilidade.

VAR	THC (%)	CBD (%)
A1	14,30a	0,10b
A2	3,60b	2,70a
A3	10,42a	2,08ab
A4	14,32a	0,12b

Fonte: dados da pesquisa.

Gráficos 21 e 22: Valores médios das concentrações de THC e CBD por variedade.



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 12: Agrupamento das variedades por concentração de canabinoides, e estimativa da contribuição relativa das variáveis (THC e CBD) pelo método proposto por Singh, baseado na Distância de Mahalanobis.

Grupo	Variedades	Variável	Contribuição (%)
1	A1, A3, A4	THC	50
2	A2	CBD	50

Fonte: dados da pesquisa.

Em relação a concentração de THC as variedades A1, A3 e A4 apresentaram valores semelhantes entre si (tabela 11), sendo que a variedade A2 apresentou a concentração média de 3,6% de THC, valor superior aos determinados para a classificação da mesma como cânhamo que é de 0,3% na maior parte dos países onde o cultivo já está regulado. Esta variedade também apresentou os maiores valores em relação à concentração de CBD, que esteve mais próximo da concentração de THC em relação às demais variedades. Porém, a concentração de CBD desta variedade ainda é relativamente baixa em comparação às variedades que vêm sendo selecionadas para maior produção deste canabinoide.

Devido a esta diferença significativa na concentração de ambos os canabinoides analisados, que apresentaram a mesma contribuição relativa para agrupar as variedades em relação à estimativa da divergência genética, a variedade A2 foi agrupada independentemente das demais.

3.1.2. Análise físico química das fibras

Os valores médios da composição química das fibras (tabela 13, gráficos de 23 a 31) e da morfologia das mesmas (tabela 14, gráficos de 32 a 38) foram utilizados como variáveis para avaliação da estimativa da divergência genética entre as variedades e a classificação das mesmas nos três grupos apresentados na tabela 15.

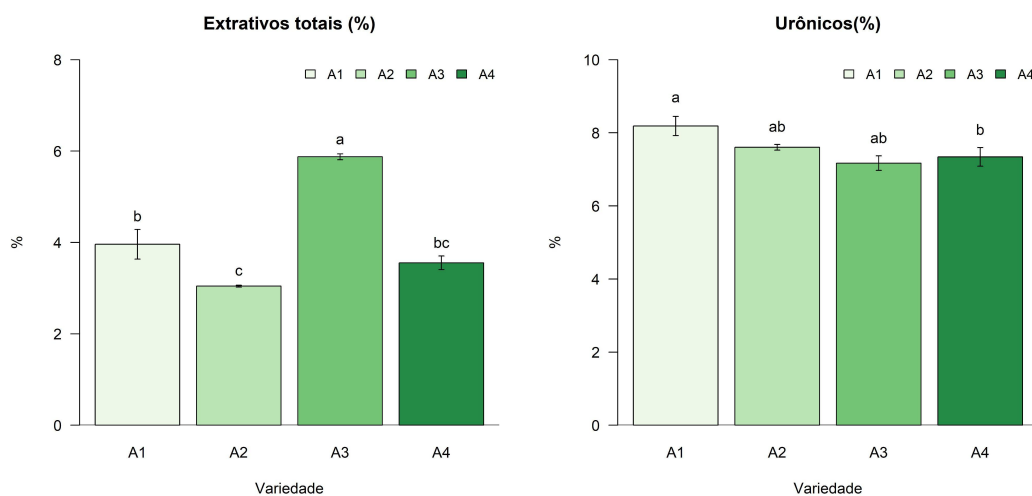
Tabela 13: Características químicas (EXT, URO, LIGSO, LIGINS, TLIG, ARA, GAL, GLIC, XIL e MAN) das fibras por variedade. Teste Tukey a 5% de probabilidade.

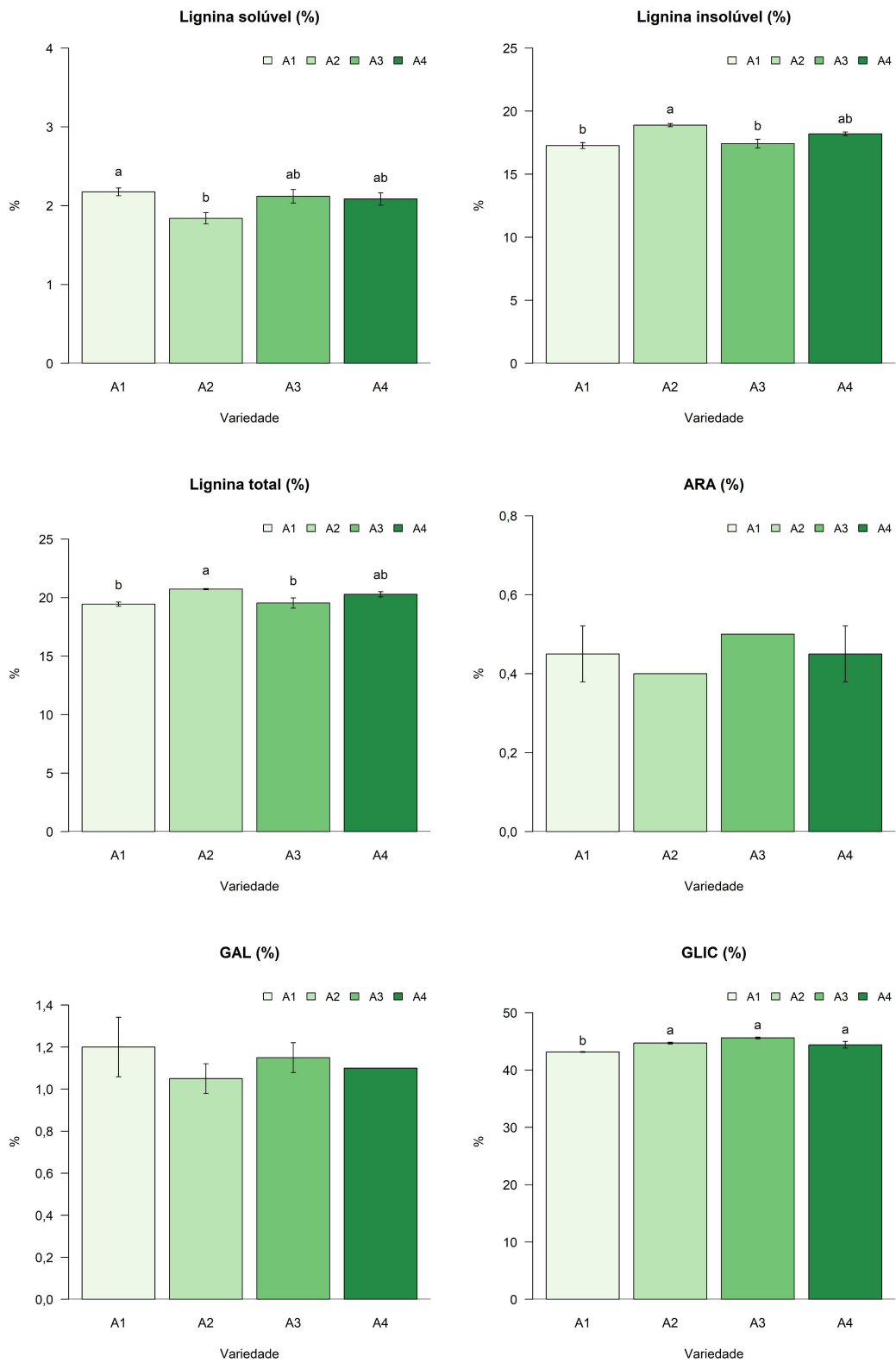
VAR	EXT	URO	LIGSO		LIGINS	TLIG	ARA	GAL	GLIC	XIL	MAN
			L								
A1	3,96b	8,18a	2,17a	17,26b	19,44b	0,45ns	1,20ns	43,15b	16,35a	1,31c	
A2	3,04c	7,60ab	1,84b	18,88a	20,72a	0,40ns	1,05ns	44,70a	13,50c	2,05a	
A3	5,87a	7,17b	2,12ab	17,42b	19,54b	0,50ns	1,15ns	45,60a	15,45ab	1,55b	
A4	3,55bc	7,34ab	2,08ab	18,20ab	20,28ab	0,45ns	1,10ns	44,40a	14,65b	1,31c	

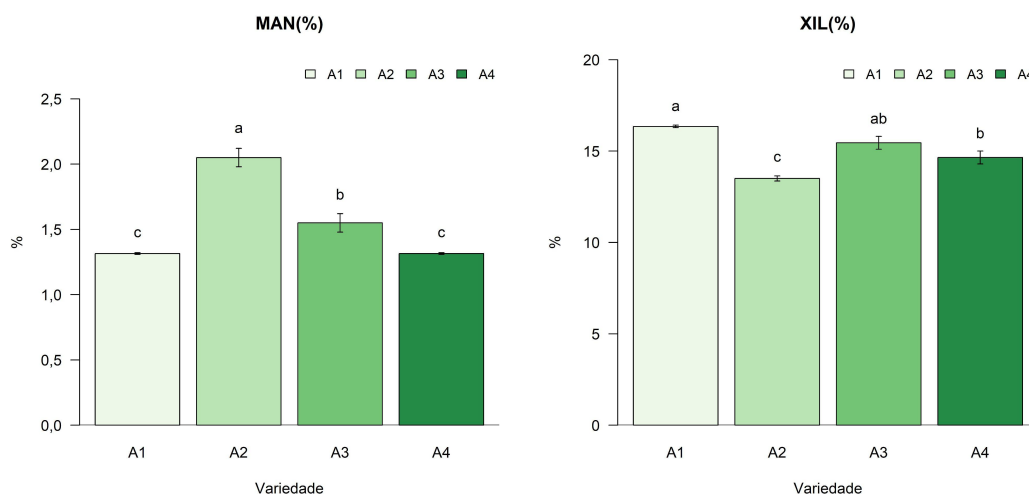
Fonte: dados da pesquisa.

Em relação ao total de lignina a variedade A2 apresentou os maiores valores médios, enquanto a variedade A3 apresentou as menores médias (tabela 13 e gráficos de 27), sendo essa uma característica de grande importância em relação à qualidade das fibras, principalmente para a produção de papel (GUTIÉRREZ; RODRÍGUEZ; DEL RÍO, 2006). Outra característica de interesse em relação às fibras vegetais é a concentração de celulose, que é um polímero de glicose (SHIMIZU, 2018). Neste sentido as variedades A2, A3 e A4 apresentaram as médias mais elevadas e semelhantes entre si para a concentração de glicose em comparação a variedade A1 que apresentou as menores médias (tabela 13, gráfico 30).

Gráficos 23 a 32: Valores médios para as características químicas das fibras por variedade.







Fonte: dados da pesquisa.

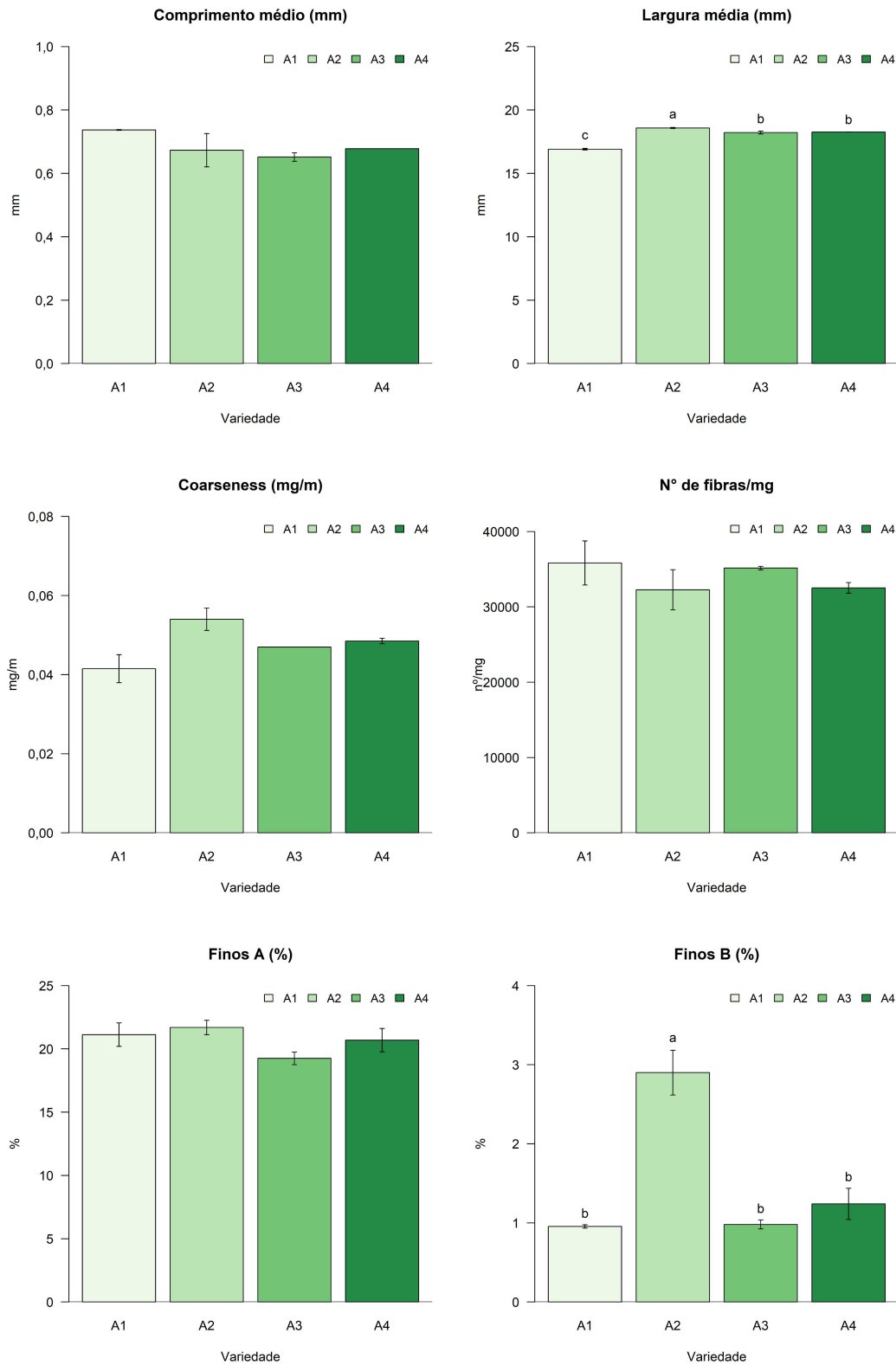
Em relação aos dados morfológicos das fibras não houve diferença significativa do comprimento médio das mesmas entre as variedades. Já em relação à largura média das fibras a variedade A2 apresentou os maiores valores médios (tabela 14, gráficos 33 e 34). A variedade A2 também apresentou maior percentual de fibras finas tipo B (tabela 14 e gráfico 37), ou seja, uma maior quantidade de fibras longas em comparação às demais variedades. Para as demais variáveis não houve diferença significativa entre as variedades (tabela 14 e gráficos de 33 a 39).

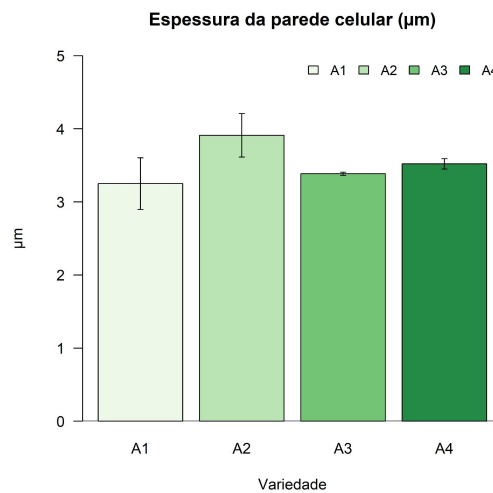
Tabela 14: Características morfológicas (CMISO, LMISO, COAR, FBISO, FINOSA, FINOSB e CWT) das fibras por variedade. Teste Tukey a 5% de probabilidade.

VAR	CMISO (mm)	LMISO (μ m)	COAR (mg/m)	FBISO (n ^o /mg)	FINOSA (%)	FINOSB (%)	CWT (μ m)
A1	0,740ns	16,90c	0,040ns	35828,5ns	21,125ns	0,955b	3,250ns
A2	0,675ns	18,58a	0,055ns	32264,5ns	21,690ns	2,900a	3,910ns
A3	0,650ns	18,22b	0,050ns	35150,0ns	19,250ns	0,980b	3,385ns
A4	0,680ns	18,26b	0,050ns	32515,5ns	20,690ns	1,240b	3,520ns

Fonte: dados da pesquisa.

Gráficos 33 a 39: Valores médios para as características morfológicas das fibras por variedade.





Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 15: Agrupamento das variedades por dados físico químicos das fibras, e estimativa da contribuição relativa das variáveis (EXT, URO, LIGSOL, LIGINS, TLIG, ARA, GAL, GLIC, XIL, MAN, CMISO, LMISO, COAR, FBISO, FINOSA, FINOSB e CWT) pelo método proposto por Singh, baseado na Distância de Mahalanobis.

Grupo	Variedades	Variável	Contribuição (%)
1	A3, A4	EXT	16,7
2	A1	URO	16,7
3	A2	LIGSOL	0
		LIGINS	0
		TLIG	0
		ARA	0
		GAL	0
		GLIC	0
		XIL	16,7
		MAN	16,7
		CMISO	16,7
		LMISO	0
		COAR	0
		FBISO	0
		FINOSA	16,7
		FINOSB	0
		CWT	0

Fonte: dados da pesquisa.

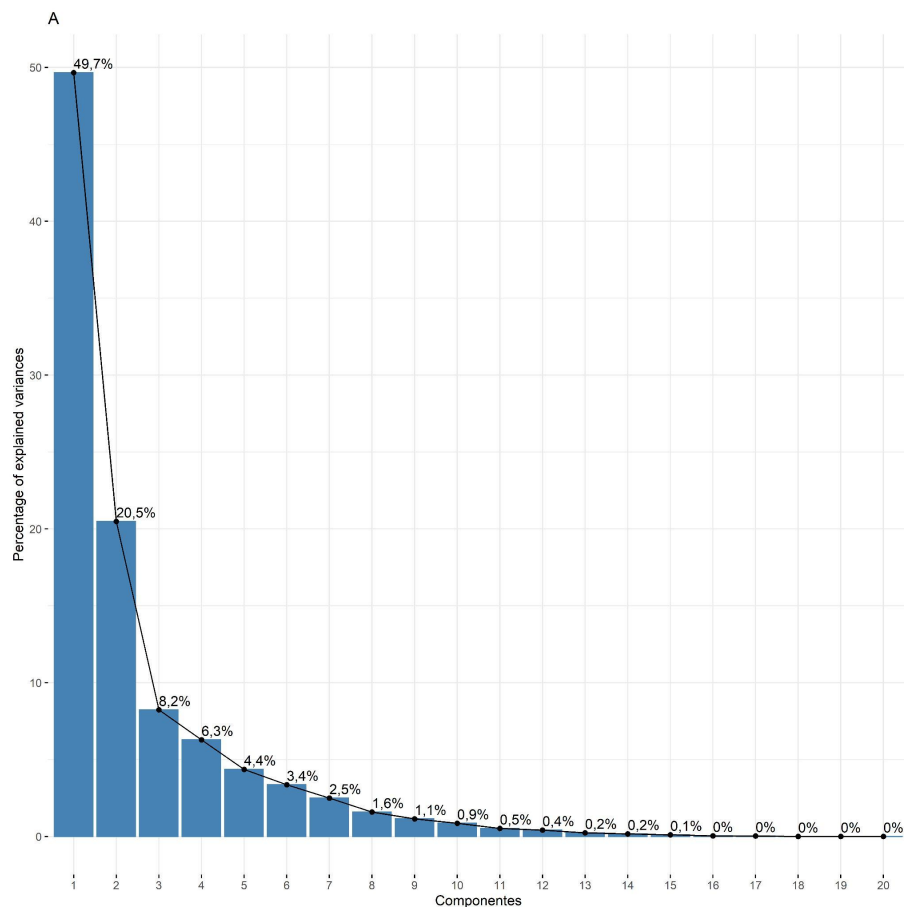
3.1.3. Análise de Componentes Principais

Em relação a análise de componentes principais, entre os 20 componentes analisados, os componentes 1 e 2 foram responsáveis por explicar 70,2% da

variância encontrada (gráfico 34). As variáveis analisadas tiveram importância semelhante nestes dois componentes, com ligeiro destaque, no componente 2, para a altura das plantas e comprimento médio dos entrenós (gráfico 41).

Dos vinte componentes analisados, 4 não apresentaram nenhuma influência para explicar a variância dos dados, sendo eles os componentes de 16 a 20 (gráfico 40). Para esses componentes as variáveis GD.DC, GD.DAF e MST tiveram grande influência (gráfico 41), indicando a possibilidade de exclusão destas variáveis por não representarem influência significativa para explicar a variância total.

Gráfico 40: Contribuição dos componentes principais para variáveis biométricas e produtividade.

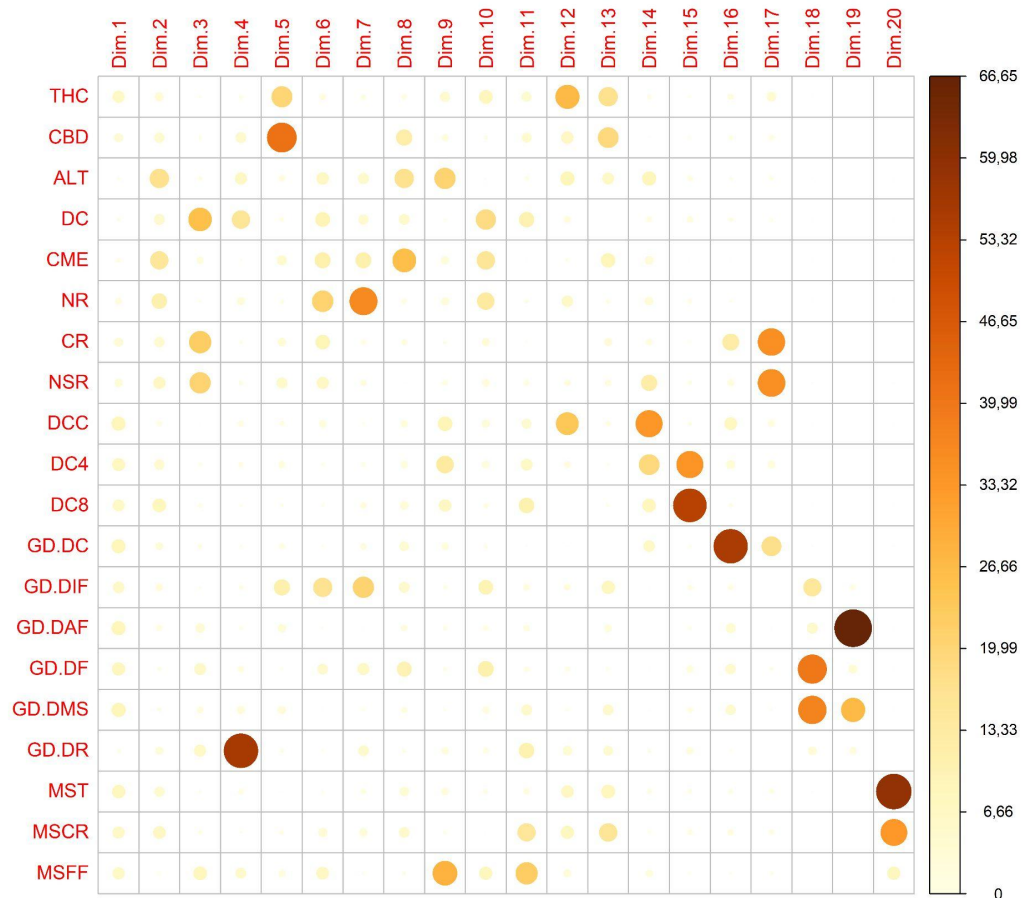


Fonte: dados da pesquisa.

Ao analisar a correlação entre as variáveis biométricas e produtividade observou-se uma forte relação positiva entre o diâmetro do caule em diversas alturas da planta, o acúmulo de Graus Dia para a conclusão do ciclo e até a indução floral, a produção de massa seca de flores e folhas, e a concentração de THC (gráfico 42, 43 e 44).

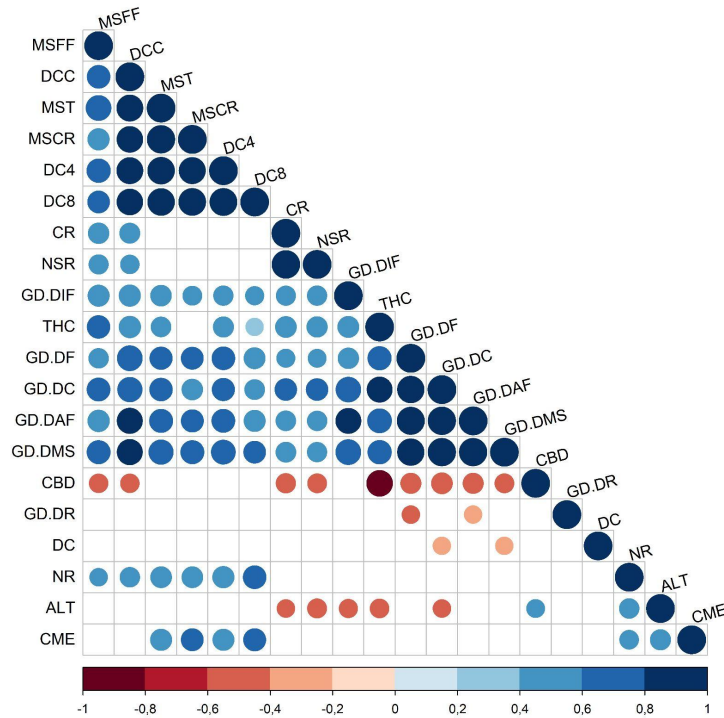
A concentração de THC possui forte correlação inversa significativa com a concentração de CBD. A concentração de THC também possui correlação inversa com a altura das plantas. Já a concentração de CBD possui correlação negativa significativa com o acúmulo de Graus Dia durante a floração e ao longo de todo o ciclo das plantas (gráfico 42, 43 e 44).

Gráfico 41: Contribuição das variáveis para a análise de componentes principais para variáveis biométricas e de produtividade.



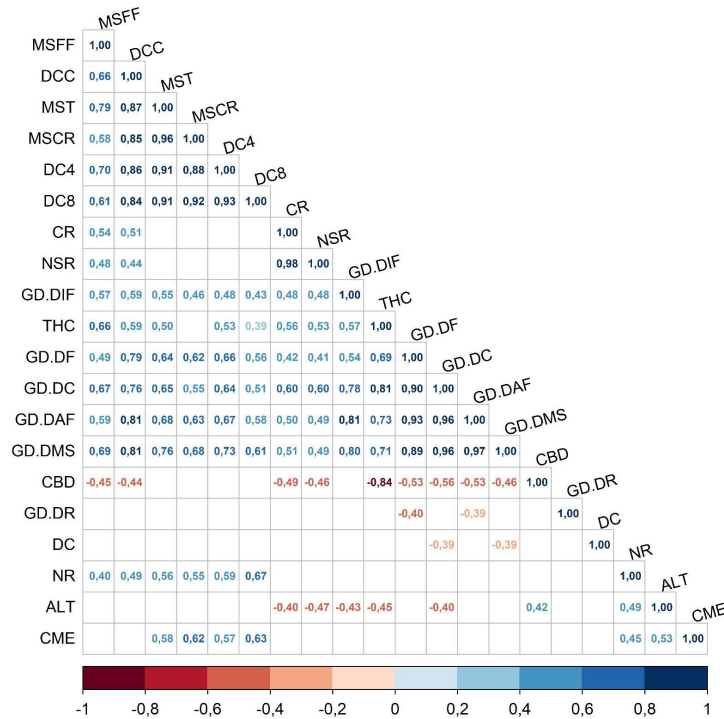
Fonte: dados da pesquisa.

Gráfico 42: Correlação entre variáveis biométricas e de produtividade.



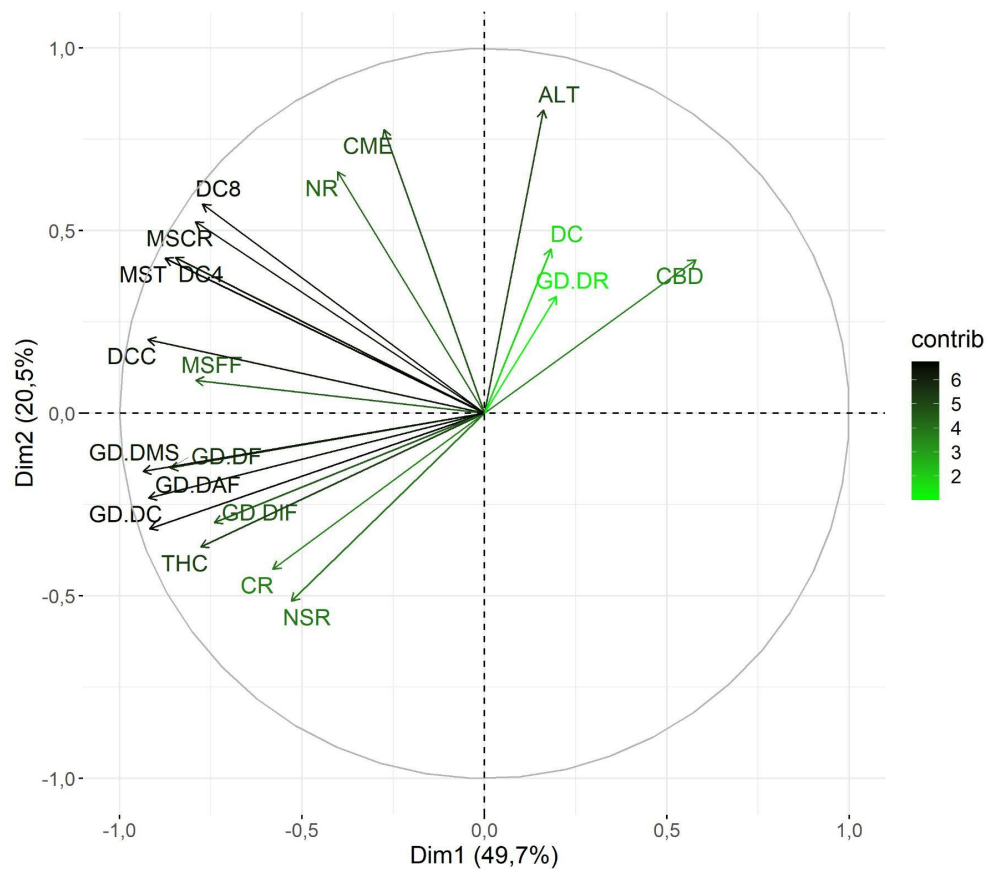
Fonte: dados da pesquisa.

Gráfico 43: Correlação numérica entre variáveis biométricas e de produtividade.



Fonte: dados da pesquisa.

Gráfico 44: Dispersão da correlação entre variáveis biométricas e de produtividade.

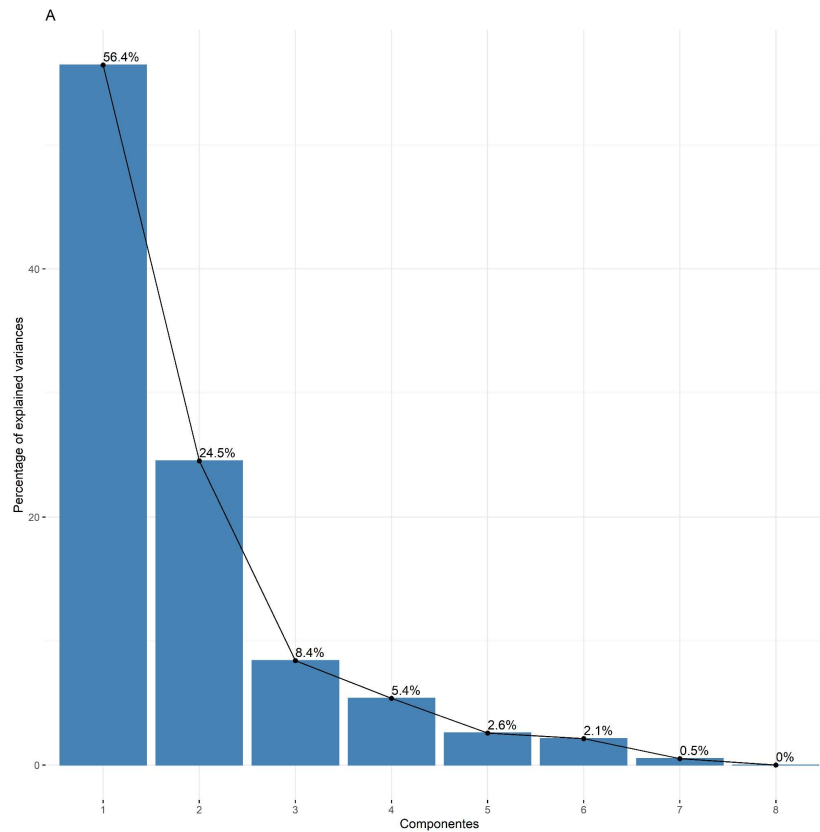


Fonte: dados da pesquisa.

Em relação à análise dos componentes principais para as características químicas e morfológicas das fibras foram obtidos 8 componentes principais, sendo que os componentes 1 e 2 foram responsáveis por explicar 80,9% da variância encontrada (gráfico 45).

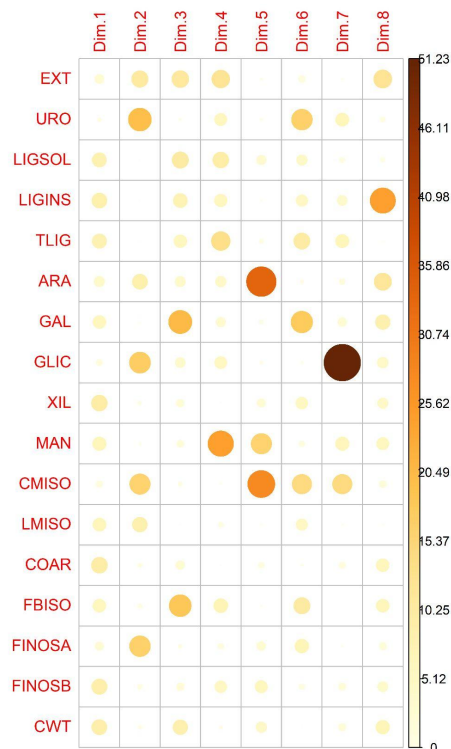
Para o componente 1 a maioria das variáveis apresentou contribuição semelhante entre si, sem destaque significativo para nenhuma delas. Em relação ao componente 2 as variáveis Urônicos, Glicose, Comprimento médio ISO ponderado e Percentual de finos A apresentaram maior contribuição para este componente (gráfico 46).

Gráfico 45: Contribuição dos componentes principais para variáveis químicas e morfológicas das fibras.



Fonte: dados da pesquisa.

Gráfico 46: Contribuição das variáveis para a análise de componentes principais para variáveis biométricas e de produtividade.



Fonte: dados da pesquisa.

A análise da correlação entre as variáveis morfológicas e químicas das fibras apresentou uma forte relação positiva entre a largura média ISO ponderada e o coarseness, assim como entre a concentração de lignina solúvel e de xilose. (gráfico 47, 48 e 49). Em relação à lignina total e insolúvel, ambas apresentaram correlação positiva com o coarseness. (47, 48 e 49).

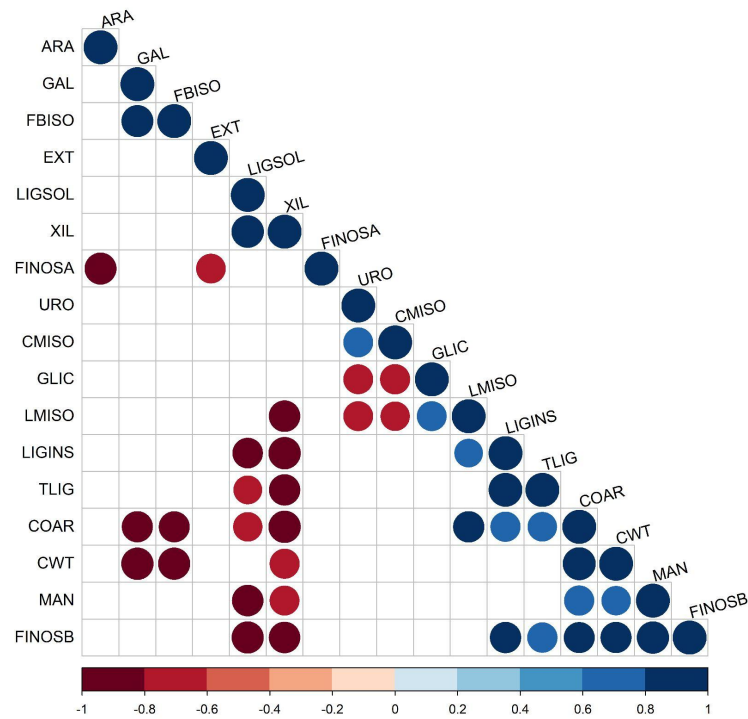
O percentual de finos B possui forte correlação positiva com a concentração de lignina insolúvel, o coarseness, o CWT e a concentração de manose (gráfico 47, 48 e 49).

O percentual de finos A possui forte correlação negativa com a concentração de arabinose. A largura média ISO ponderada possui forte correlação negativa com a concentração de xilose, urônicos e o comprimento médio ISO ponderado, mostrando uma relação inversa entre o comprimento e a largura das fibras. A concentração de lignina insolúvel, assim como o total de lignina, possui correlação negativa com a concentração de lignina solúvel e a concentração de xilose (gráfico 47, 48 e 49).

O coarseness apresentou correlação negativa significativa em relação a concentração de galactose, n° de fibras ISO, concentração de lignina solúvel e de xilose. Comportamento semelhante ao CWT, que por sua vez não apresentou correlação negativa com a lignina solúvel quando comparado ao coarseness (gráfico 47, 48 e 49).

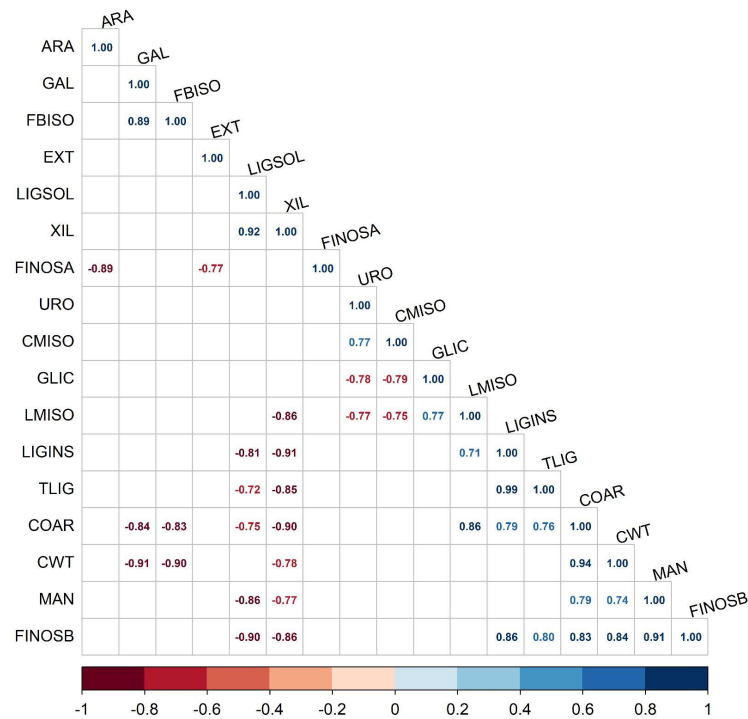
A concentração de manose possui correlação negativa com a concentração de lignina solúvel e de xilose, assim como o percentual de finos B que apresentou o mesmo comportamento (gráfico 47, 48 e 49).

Gráfico 47: Correlação entre variáveis morfológicas e químicas das fibras.



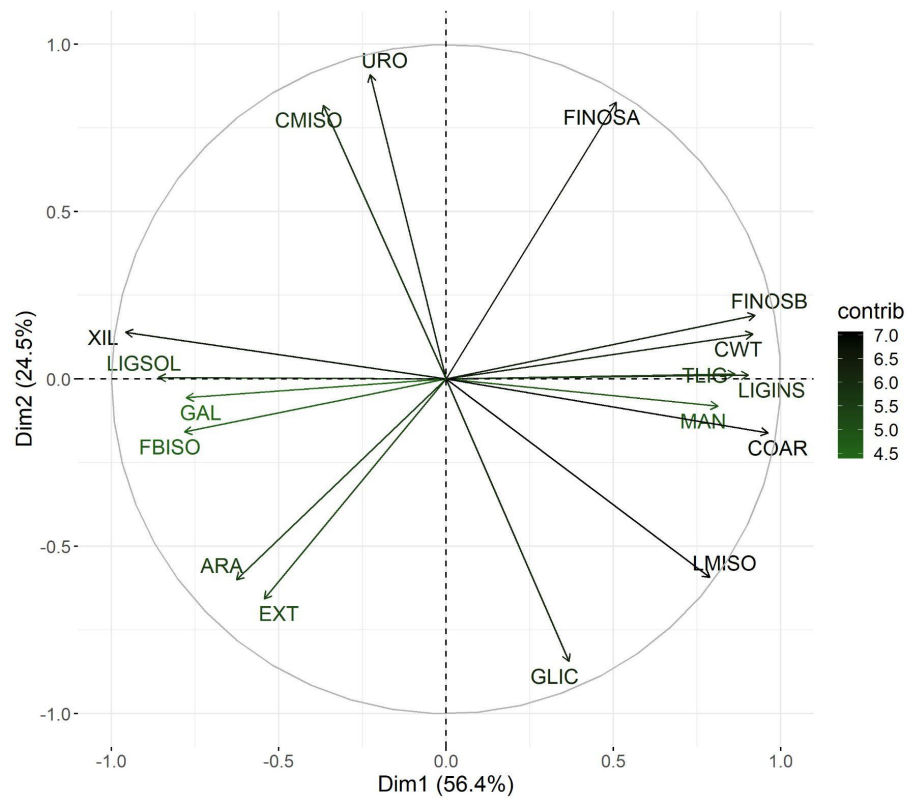
Fonte: dados da pesquisa.

Gráfico 48: Correlação numérica entre variáveis morfológicas e químicas das fibras.



Fonte: dados da pesquisa.

Gráfico 49: Dispersão da correlação entre variáveis morfológicas e químicas das fibras.



Fonte: dados da pesquisa.

3.2. Discussão

Em relação à umidade relativa do ar, os valores médios permaneceram, durante a maior parte do tempo, entre a faixa considerada ideal para os cultivos que vai de 40% a 60% (GOLD; ROSENTHAL, 1997), apresentando valor médio de 52% ao longo do cultivo (gráfico 1).

A temperatura média ao longo do cultivo foi de 30°C (gráfico 1), valor acima do considerado ideal para a cultura que é de 21°C (ROSENTHAL, 2010). Este dado reforça a necessidade do desenvolvimento de variedades melhoradas que estejam adaptadas às temperaturas mais elevadas dos países tropicais, já que a temperatura tem grande influência na produtividade de biomassa e de canabionoides (SIKORA; BERENJI; LATKOVIĆ, 2011).

Para ambos os fatores ambientais percebeu-se uma amplitude significativa dos valores ao longo do dia, o que pode ter causado estresse nas plantas. No caso

da temperatura, além de interferir na produção dos canabinoides (SIKORA; BERENJI; LATKOVIĆ, 2011), a ocorrência de baixas temperaturas relativas também pode induzir a hemafrotização, ou seja, a indução da dioiccia em plantas monóicas (KAUSHAL, 2012; HALL, 2012). Esse processo também pode ser induzido devido ao estresse relacionado à disponibilidade de luz (ROSENTHAL, 2010). Em relação a amplitude da umidade relativa do ar, em situações de valores mais baixos o ambiente pode se tornar favorável para a ocorrência de ácaros (MCPARTLAND, CLARKE, WATSON, 2000), enquanto sob temperaturas mais elevadas o ambiente pode se tornar favorável para a incidência de fungos com grande potencial de causar danos à cultura (GOLD; ROSENTHAL, 1997; MCPARTLAND, CLARKE, WATSON, 2000).

O percentual de plantas de cada sexo em cada variedade está apresentado na tabela 3 e apresentam valores próximos aos relatados na literatura, já que para variedades dióicas a distribuição de plantas entre os sexos pode variar e existir certo equilíbrio (SMALL, 2016; HALL, 2012). Já para as variedades monóicas 100% das plantas apresentaram órgãos florais dos dois sexos, confirmando os dados da literatura (SMALL, 2016).

O principal objetivo ao agrupar as variedades de acordo com a estimativa da divergência genética das mesmas é selecionar genitores divergentes para a realização dos cruzamentos, visando obter maior ganho genético em relação às características de interesse (BORÉM, 2017). Ou seja, utilizar o resultado dos agrupamentos para direcionar os cruzamentos de acordo com a finalidade para qual deseja-se obter ganhos genéticos mais significativos, já que a finalidade do melhoramento direciona os métodos, as estratégias e na seleção dos genitores a serem utilizados (BORÉM, 2017). Os agrupamentos foram realizados de forma independente para as características biométricas, para o comportamento agrônômico, para a composição química em relação à concentração de canabinoides, e para a composição química e a morfologia das fibras.

Em relação às variáveis biométricas, que representam fatores ligados ao porte e a arquitetura da planta, foram obtidos 3 grupos distintos, sendo que as variedades A2 e A3 foram classificadas no mesmo grupo (tabela 5). A variedade A2

é reconhecida como uma variedade de cânhamo utilizada na produção de fibras e grãos, ou seja, um tipo de planta que apresenta notadamente um crescimento vertical mais acentuado em relação ao crescimento das ramificações laterais (SMALL, 2016). Esse dado foi confirmado pelo índice de crescimento (IC) observado para essa variedade (Gráfico 19), pela elevada altura das plantas e também menor comprimento dos ramos e número de nós nos mesmos em comparação com as demais variedades (tabela 4 e gráficos 2, 6 e 7). Como as variedades de cânhamo são geralmente utilizadas para a produção de fibras, é comum a utilização de menores espaçamentos entre plantas, ou seja, uma maior densidade de plantio e portanto, ao longo do tempo foram selecionadas plantas com menor diâmetro de caule, o que permite um maior adensamento. As plantas da variedade A2 apresentaram menor diâmetro do caule em todos os pontos avaliados nas plantas em comparação com as demais variedades (tabela 4 e gráficos 8, 9 e 10).

As variedades de cânhamo também vêm sendo utilizadas por séculos como fontes de fibras de alta qualidade (SMALL, 2016) e, pelo fato de apresentarem concentrações de THC restritas, são consideradas uma fonte segura para obtenção das mesmas (SMALL, 2016). As plantas de cânhamo também possuem um grande potencial para a produção de biomassa (SMALL, 2016). As principais variáveis que contribuíram para a obtenção destes 3 grupos foram o diâmetro da copa no terço médio das plantas (DC), o número de ramos (NR) e o número de nós dos ramos (NSR) (tabela 5).

A variedade A3, apesar de ser uma variedade utilizada para fins medicinais e adulto, apresentou menor divergência genética para o comportamento agrônômico em relação à variedade A2 (tabela 5). Sendo a variedade A3 de origem colombiana, ou seja, de uma região tropical que possui clima muito semelhante à algumas regiões brasileiras, essa variedade pode ser utilizada em cruzamentos quando o objetivo é o desenvolvimento de variedades com porte mais alto para serem cultivadas sob climas tropicais já que, igualmente a variedade A2, ela apresentou os maiores valores em relação à altura das plantas (tabela 4 e gráfico 2). Ambas as variedades também apresentaram os maiores comprimentos de ramo (tabela 4 e gráfico 6), indicando que podem ser variedades com maior volume de parte aérea. A

variedade A3 também apresentou maior quantidade de ramos em comparação às demais variedades (tabela 4 e gráfico 5).

A variedade A1 apresentou o menor porte e contrasta com as variedades do grupo 1 (A2 e A3) e do grupo 3 (A4) (tabela 4 e gráfico 2). Portanto existe a possibilidade do uso deste material em cruzamentos cujo objetivo seja a obtenção de progênies mais baixas que podem, por exemplo, evitar o tombamento de plantas em regiões com maior incidência de ventos.

Em relação ao índice de crescimento (IC) das variedades, o grau de inclinação da curva nos gráficos representa a velocidade de crescimento vertical das plantas, representado pelo fator “B” nas fórmulas das regressões não lineares (gráfico 19).

A variedade A2 apresentou maior velocidade de crescimento inicial, representado pelo maior valor do fator “B” que chegou a ser quase duas vezes maior que a segunda variedade com maior valor para esse fator (variedade A1) (gráfico 19).

A variedade A2 tem um crescimento vertical inicial mais expressivo chegando a um momento de estabilização antes das demais variedades, em torno de 81 dias após a emergência contra aproximadamente 121 das demais variedades (gráfico 19). Esse fato é explicado devido ao ciclo das plantas de cânhamo term, em geral, maior velocidade de crescimento, além de terem sido selecionadas para serem colhidas no início da floração. São relatados ciclos médios de 120 para a colheita de cânhamo (ABREU, 2013).

O fato de as temperaturas no local do experimento terem sido superiores às das tradicionais regiões produtoras de cânhamo pode ter contribuído para o maior acúmulo térmico por dia (graus dia), o que contribui com a maior velocidade do crescimento vegetativo das plantas desde que não sejam temperaturas que reduzam o metabolismo das mesmas (SANCHES et al., 2019).

Portanto a variedade A2, que contrasta com as variedades A1 e A4 em relação ao porte e arquitetura pode ser utilizada em cruzamentos com estas variedades como fonte de recurso genético visando o desenvolvimento de variedades precoces e que apresentem maior taxa de crescimento inicial.

Em relação à duração do ciclo e das fases fenológicas das variedades, a variedade A2 foi agrupada de forma independente do segundo grupo composto pelas variedades A1, A3 e A4 (tabela 8). A principal variável que contribuiu para esse agrupamento foi a duração das fases vegetativas e reprodutivas das variedades, tanto em dias quanto em graus dias. Estas foram representadas pela DIF (dias até a indução floral em 50% das plantas), DR (duração da fase reprodutiva = dias entre a abertura de 50% das flores de 50% das plantas até o dia da maturação de 50% das sementes em 50% das plantas fêmeas ou monoicas), GD.DIF (demanda de graus dia até o dia da indução floral em 50% das plantas) e GD.DR (demanda de graus dia da fase reprodutiva = demanda de graus dia entre o dia da abertura de 50% das flores de 50% das plantas até o dia da maturação de 50% das sementes em 50% das plantas fêmeas ou monoicas).

O fato da variedade A2 ter apresentado a menor demanda térmica para completar o ciclo vegetativo, 898,1 graus dia contra 1271,59 graus dia da segunda variedade com menor demanda (A4) (tabela 7), reforça a precocidade desta variedade, conforme também foi reportado através do índice de crescimento (IC). Porém, em contraste a estes dados a variedade A2 apresentou a maior demanda térmica para completar a fase reprodutiva, 613,77 graus dia contra 519,13 graus dia da segunda variedade com maior demanda para esta fase (A1) (tabela 7).

Apesar destes fatores, a variedade A2 apresentou menor duração do ciclo em aproximadamente 20 e 30 dias quando comparada, respectivamente, com as variedades A1 e A4 que foram classificadas em um grupo diferente desta variedade (tabela 8).

Em relação a germinação e emergência das plantas, não houve diferença significativa entre as variedades (tabela 7).

Ao avaliar as variáveis relacionadas à produtividade foram obtidos dois grupos, sendo um deles composto pela variedade A3 e o segundo pelas variedades A1, A2 e A4. Sendo que a variável de maior contribuição relativa foi o peso de massa fresca e seca das folhas e flores (tabela 10).

O fato da variedade A3 ser de origem colombiana faz com que a mesma esteja mais adaptada às condições tropicais, incluindo temperaturas mais elevadas

em relação às demais variedades que possuem origem europeia. Portanto, o maior desempenho em relação à produtividade pode estar relacionado à maior adaptabilidade às condições climáticas. Esta variedade se apresenta como um grande potencial para obtenção de materiais superiores sob as condições tropicais brasileiras.

Outro fator que contribui com a maior produtividade desta variedade está relacionado ao porte e arquitetura da planta, já que a mesma apresentou grande crescimento vertical e também um grande crescimento das brotações laterais (tabela 4, gráficos 2, 4, 5, 8, 9, 10 e 19), portanto maior parte aérea com maior potencial de produção de folhas e flores.

A maior diferença entre a massa fresca em comparação massa seca da variedade A3 em relação à diferença das demais variedades demonstra que embora esta variedade tenha acumulado mais massa fresca, o que associado aos dados biométricos indica uma variedade com maior desenvolvimento da parte aérea, este crescimento diferenciado não representou o mesmo comportamento em relação à produtividade das flores secas que são a parte de interesse comercial para fins medicinais. Portanto essa variedade apresentou, proporcionalmente, maior acúmulo proporcional de água em seus tecidos em comparação com as demais variedades.

A partir dos dados da concentração de canabinoides as variedades foram divididas em dois grupos. Um composto apenas pela variedade A2 e o segundo pelas demais variedades, A1, A3 e A4. Ambos os canabinoides analisados, THC e CBD, tiveram a mesma contribuição para o agrupamento (tabela 12).

A separação da variedade A2 em um grupo independente já era esperada quando a análise é feita pela concentração de canabinoides, já que, por ser uma variedade classificada como cânhamo, esperasse uma menor concentração de THC nestas plantas (UNODC, 2022). Além da menor concentração de THC estas plantas apresentaram as maiores concentrações de CBD (tabela 11, gráficos 21 e 22), portanto esta variedade se mostra como um potencial genitor quando o objetivo é a obtenção de plantas com concentrações reduzidas de THC e concentrações mais equilibradas de CBD.

É importante avaliar que a concentração média de THC da variedade A2 foi de 3,6% (tabela 11 e gráfico 21), superando o critério adotado em grande parte do mundo para a classificação como cânhamo. Atualmente existem referências às plantas de cânhamo com concentração de THC entre 0,3% e 1,0% de acordo com as legislações vigentes em cada país (SECHAT, 2020; HOBAN, 2022).

É sabido que as elevadas temperaturas e radiação solar podem contribuir para o aumento da concentração de THC nas plantas de cannabis (SIKORA; BERENJI; LATKOVIĆ, 2011). Esta pode ser uma das explicações para que a variedade A2 tenha apresentado concentrações de THC mais elevadas do que o previamente definido, já que a temperatura média esteve acima do indicado para a cultura (SCHUMACHER; PEQUITO; PAZOUR, 2020).

A concentração de canabinoides também é uma característica poligênica e conseqüentemente sofre grande interferência ambiental (MCPARTLAND; SMALL, 2020), por isso o desenvolvimento de plantas que tenham menor variação nestas concentrações sob altas temperaturas é fundamental para o Brasil.

A variedade A2 pode, portanto, devido às baixas concentrações dos canabinoides avaliados e a divergência genética estimada em relação às demais variedades, ser utilizada em cruzamentos quando o objetivo for a obtenção de materiais com baixas concentrações e proporção semelhante de canabinoides, voltados para a produção de fibras ou grãos.

A forte correlação positiva entre o acúmulo de graus dia até a indução da floração, que representa a duração da fase vegetativa das plantas, e a concentração de THC (gráficos 42, 43 e 44) indica a possibilidade do manejo da duração desta fase através do controle do fotoperíodo com o uso de iluminação suplementar visando aumentar ou reduzir a concentração deste canabinoide. Esta estratégia pode ser fundamental para o cultivo de cânhamo para fins medicinais em países tropicais, já que as elevadas temperaturas podem contribuir para a maior concentração de THC nas plantas (SIKORA; BERENJI; LATKOVIĆ, 2011), superando os padrões determinados geralmente utilizados pelas principais legislações mundiais em relação a classificação das plantas de cânhamo em relação à concentração deste canabinoide.

Devido a forte correlação inversa entre os dois principais canabinoides, THC e CBD, esta estratégia pode contribuir tanto para manter as concentrações de THC dentro dos limites estabelecidos, quanto para elevar a concentração de CBD quando este for um objetivo de interesse.

Além disso, a correlação positiva entre o diâmetro do coleto e a concentração de THC (gráficos 42, 43 e 44) pode indicar a possibilidade do uso desta variável para uma pré-seleção fenotípica de plantas, visando a maior concentração de THC ou CBD a depender dos objetivos do melhorista.

A última análise de agrupamento realizada levou em consideração os dados físico-químicos das fibras das diferentes variedades. As variáveis que tiveram a maior contribuição relativa para essa classificação foram os percentuais de extrativos totais (EXT), urônicos (URO), xilose (XIL), manose (MAN), comprimento da fibra (CMISO) e percentual de material com comprimento menor que 0,2 mm (FINOSA) (tabela 15).

As variedades foram divididas em 3 grupos, sendo que as variedades A3 e A4 permaneceram no mesmo grupo e as variedades A1 e a A2 em grupos independentes (tabela 15).

Devido às maiores médias em relação à concentração de lignina total (tabela 13 e gráfico 27), além da maior produção de biomassa (tabela 9 e gráfico 20), a variedade A3 teve destaque em relação a possibilidade do seu uso em cruzamentos quando o objetivo for o desenvolvimento de variedades melhoradas com a intenção da produção de papel a partir dos resíduos vegetais de cultivos voltados para a produção de canabinoides.

A variedade A2 apresentou valores médios para a largura da fibra e quantidade de fios finos longos maiores em relação às demais variedades (tabela 14, gráficos 34 e 38). Devido a significativa divergência genética estimada entre esta variedade e a variedade A3 (tabela 15), que apresentou as maiores médias em relação às variáveis químicas das fibras que demonstraram diferenças significativas entre as variedades (tabela 13), ambas podem ser utilizadas em cruzamentos cujo objetivo seja a obtenção de materiais melhorados visando a produção de fibras de maior qualidade a depender dos objetivos da utilização da matéria prima.

A partir das análises dos agrupamentos formados para as variáveis das características observadas (tabelas 5, 8, 10, 12 e 15) é possível estimar a variedade A2 como a mais divergente entre as quatro, já que, em 3 dos 5 agrupamentos realizados esta variedade foi classificada de forma isolada (tabelas 5, 8, 10, 12 e 15). A variedade A2 apresenta potencial para compor um possível cruzamento visando o desenvolvimento de variedades comerciais de cânhamo para o Brasil, enquanto a variedade A3 apresenta potencial para compor um cruzamento visando maior adaptabilidade das variedades às condições climáticas brasileiras e maiores produtividades.

Em relação aos cruzamentos e armazenamento de sementes para manutenção de germoplasma, foram coletadas sementes de 27 plantas, sendo dois obtidos por autofecundação e os demais por cruzamento ao acaso. As sementes foram armazenadas para futura caracterização junto a empresa ADWA Cannabis.

4. CONCLUSÕES GERAIS

O projeto realizado marcou o início efetivo do primeiro programa de melhoramento genético de Cannabis do Brasil para fins medicinais e industriais, e para tal é fundamental a realização de pesquisas contínuas que forneçam as informações necessárias para o direcionamento das atividades de melhoramento genético e desenvolvimento de novas variedades.

Algumas das variedades caracterizadas apresentaram contraste entre a duração da fase vegetativa e reprodutiva. Por isso existe a possibilidade de maiores estudos para a compreensão desta dinâmica tanto para fins de melhoramento, quanto para fins de nutrição e demais práticas de manejo das plantas.

Foram identificados grupos genéticos divergentes, com destaque para a variedade A2 que foi agrupada independentemente, em relação às demais variedades, em 3 dos 5 agrupamentos realizados. Esta variedade se destacou em relação a menor concentração de THC, maior concentração de CBD e maior equilíbrio entre as concentrações dos dois canabinoides. A variedade A3 teve destaque em relação ao comportamento agrônômico, apresentando maior acúmulo de biomassa e produtividade. A variedade A1 apresentou a maior concentração média de THC e o menor porte, indicando a possibilidade do seu uso em cruzamentos visando a obtenção de plantas de menor porte.

Os dados apresentados auxiliam na classificação das variedades, permitindo gerar informações para a estruturação do primeiro banco de germoplasma da cultura no país. A empresa ADWA Cannabis está catalogando e armazenando este material para futuras contribuições.

São necessários mais estudos que correlacionem as variáveis analisadas em um maior número de ambientes e com maior diversidade de material genético para avaliar a pertinência de exclusão ou inclusão de variáveis que tornem o processo de caracterização, classificação, seleção de genitores e direcionamento de cruzamentos mais eficiente.

As sementes obtidas através dos cruzamentos foram armazenadas e se tornam uma fonte de recursos genéticos importante para o país visando o desenvolvimento de trabalhos futuros de melhoramento genético.

O presente trabalho também permitirá o avanço no desenvolvimento de modelos preditivos do comportamento das plantas, auxiliando na elaboração de Zoneamentos Agrícolas de Risco Climático para a cultura.

Os modelos de regressão poderão ser utilizados, com ajustes futuros e o correlacionamento com outras variáveis avaliadas, para prever o comportamento das plantas, além de auxiliar na seleção precoce de progênies através do padrão de crescimento.

É fundamental dar continuidade aos trabalhos de melhoramento genético para esta espécie no Brasil, tendo em vista que, por se tratar de um país tropical, com elevadas temperaturas, existe a tendência que as plantas classificadas como cânhamo produzam concentrações mais elevadas de THC, o que pode inviabilizar alguns cultivos no país.

Embora seja um trabalho inicial, a apresentação destes dados abre um leque de possibilidades para a pesquisa sobre cannabis no país, em diversos campos da ciência agrônoma.

Além de ampliar o acesso a maior diversidade de materiais genéticos, o que pode influenciar para que variáveis que não apresentaram contribuição relevante para os agrupamentos apresentem resultado diferente e também ampliar a variabilidade genética disponível para o programa de melhoramento genético, são necessários mais trabalhos visando a caracterização das variedades para a seleção de genitores e direcionamento dos cruzamentos. O uso de técnicas de genômica, fenômica e “ambientômica”, através de BIGDATA, inteligência artificial, machine learning e modelagem computacional, se fazem como opção importantes em trabalhos futuros para que se possa obter maiores avanços em relação ao melhoramento genético desta espécie no país.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M. J. **A Cultura do Cânhamo**. <http://www.drapn.min-agricultura.pt> (acesso em 26-06-2013)., p. 3–5, 2013.
- BABAEI, M.; AJDANIAN, L. **Screening of different Iranian ecotypes of cannabis under water deficit stress**. *Scientia Horticulturae*, v. 260, n. July 2019, 2020.
- BARRETO, L. A. A. S. **A Maconha (*Cannabis sativa*) e seu valor terapêutico**. Faculdade de Ciências da Saúde do Centro Universitário de Brasília, 2002.
- BENTO, M.; CAMARGO, P. D. E.; BRUNINI, O. R. I. V. **Temperatura-base para cálculo dos graus-dia para cultivares de soja em São Paulo**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 22, n. 2, p. 115–121, 1987.
- BERNSTEIN, N. et al. **Impact of N, P, K, and humic acid supplementation on the chemical profile of medical cannabis (*Cannabis sativa* L)**. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, n. June, 2019.
- BIANCHI, P. A. et al. **Caracterização morfológica e análise da variabilidade genética entre acessos de pimenta**. *Ciência Rural*, v. 46, n. 7, p. 1151–1157, 2016.
- BORÉM, Aluizio; MIRANDA, Glauco Vieira; FRITSCHÉ-NETO, Roberto. **Melhoramento de plantas**. [S.l: s.n.], 2017.
- CAPLAN, D.; DIXON, M.; ZHENG, Y. **Increasing inflorescence dry weight and cannabinoid content in medical cannabis using controlled drought stress**. *HortScience*, v. 54, n. 5, p. 964–969, 2019.
- CHANDRA, S. et al. **Photosynthetic response of *Cannabis sativa* L . to variations in photosynthetic photon flux densities , temperature and CO 2 conditions**. v. 14, n. 4, p. 299–306, 2008.
- COCKSON, P. et al. **Characterization of nutrient disorders of *Cannabis sativa***. *Applied Sciences (Switzerland)*, v. 9, n. 20, 2019.
- CONNELLY, L. J. et al. **Characterization of the *Cannabis sativa* glandular trichome proteome**. *PLoS ONE*, v. 16, n. 4 April, p. 1–26, 2021.
- CONNELLY, L. J. et al. **Characterization of the *Cannabis sativa* glandular trichome proteome**. *PLoS ONE*, v. 16, n. 4 April, p. 1–26, 2021.
- CRINI, G. et al. **Applications of hemp in textiles, paper industry, insulation and building materials, horticulture, animal nutrition, food and beverages,**

nutraceuticals, cosmetics and hygiene, medicine, agrochemistry, energy production and environment: a review. *Environmental Chemistry Letters*, v. 18, n. 5, p. 1451–1476, 2020.

DE MEIJER, E. P. M.; VAN DER KAMP, H. J.; VAN EEUWIJK, F. A. **Characterisation of Cannabis accessions with regard to cannabinoid content in relation to other plant characters.** *Euphytica*, v. 62, n. 3, p. 187–200, 1992.

DIAS, L. A. DOS S.; KAGEYAMA, P. Y. **Comparison between multivariate methods applied for the evaluation of genetic divergence in Cacao (*Theobroma cacao* L.).** *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 41, n. 2, 1998.

DORICE, L. L.; EPHRAIM, J. M.; GEORGE, M. M. **A review of plant characterization: First step towards sustainable forage production in challenging environments.** *African Journal of Plant Science*, v. 14, n. 9, p. 350–357, 2020.

FÉDÉRATION NATIONALE DES PRODUCTEURS DE CHANVRE. **Les variétés de chanvre de la FNPC.** 2014.

FORMIGA, I. **‘Vida nova’, dizem pais de menina que há 2 anos usa derivado da maconha Canabidiol zerou convulsões de garota que tinha até 80 crises por.**

Disponível em:

<<https://g1.globo.com/distrito-federal/noticia/2015/11/vida-nova-dizem-pais-de-menina-que-ha-2-anos-usa-derivado-da-maconha.html>>. Acesso em: 7 mar. 2022.

GAO, C. et al. **Genome-Wide Expression Profiles of Hemp (*Cannabis sativa* L.) in Response to Drought Stress.** *International Journal of Genomics*, v. 2018, 2018.

GEMMACERT. **Cannabis Potency Variability and Cost-Effective Testing A statistical analysis of potency variance and its potential solutions.** p. 1–10, 2017.

GENETICS, N. W. **Announcing NWG AMPLIFY™ : a genetic trait that doubles hemp yields.** Disponível em:

<<https://www.prnewswire.com/news-releases/announcing-nwg-amplify--a-genetic-trait-that-doubles-hemp-yields-301467435.html>>. Acesso em: 7 mar. 2022.

GOLD, D.; ROSENTHAL, Ed. **CO₂, Temperature e Humidity: how to use CO₂ to increase growth in your garden and greenhouse.** Oakland, EUA: Quick American a Division of Quick Trading Co., 1997.

GUTIÉRREZ, A.; RODRÍGUEZ, I. M.; DEL RÍO, J. C. **Chemical characterization of lignin and lipid fractions in industrial hemp bast fibers used for manufacturing**

high-quality paper pulps. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 54, n. 6, p. 2138–2144, 2006.

HAJIHA, H.; SAIN, M.; MEI, L. H. **Modification and Characterization of Hemp and Sisal Fibers.** Journal of Natural Fibers, v. 11, n. 2, p. 144–168, 2014.

HALL, J.; BHATTARAI, S. P.; MIDMORE, D. J. **Review of Flowering Control in Industrial Hemp.** Journal of Natural Fibers, v. 9, n. 1, p. 23–36, 2012.

HALL, J.; BHATTARAI, S. P.; MIDMORE, D. J. **Effect of industrial hemp (*Cannabis sativa* L) planting density on weed suppression , crop growth , physiological responses , and fibre yield in the subtropics.** 2014.

HEIDI, G. **Dark Heart Announces World ' s First Intrinsically Seedless Cannabis for Commercial Producers.** Disponível em:
<<https://finance.yahoo.com/news/dark-heart-announces-world-first-130000536.html>>.
Acesso em: 7 mar. 2022.

HEMP, PLANET. **Stab.** A invasão do sagaz homem fumaça. Sony Music. 2000.

HERNÁNDEZ, A. **Impact of Plant Density and Irrigation on Yield of Hemp (*Cannabis sativa* L .) in a Mediterranean Semi-arid Environment.** v. 16, p. 887–895, 2014.

HOBAN, R. **Europe Aligns With U . S . On Industrial Hemp THC Requirements.** Forbes, p. 1–5, 2022.

JOHNSON, R. **Hemp as an Agricultural Commodity.** Renée Johnson Specialist in Agricultural Policy. Congressional Research Service, p. 48, 2017.

JOHNSON, R. **Hemp as an agricultural commodity.** Congressional Research Service, p. 65–95, 2013.

Juíza concede HC coletivo para associação plantar maconha para fins medicinais. Disponível em:
<<https://www.conjur.com.br/2021-fev-13/associacao-autorizada-plantar-maconha-fins-mediciais>>. Acesso em: 10 out. 2021.

KAUSHAL, S. **Impact of Physical and Chemical Mutagens on Sex Expression in *Cannabis sativa*.** Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences , v. 2, n. 4, p. 97–103, 2012.

KIRAN, S. et al. **Drying of cannabis — state of the practices and future needs.** Drying Technology, v. 0, n. 0, p. 1–10, 2020.

KOVUR, S. K. et al. **Characterization of refined hemp fibers using NIR FT Raman micro spectroscopy and environmental scanning electron microscopy.**

BioResources, v. 3, n. 4, p. 1081–1091, 2008.

LANARO, R. **Determinação de paraquat e glifosato em amostras de *Cannabis sativa* encaminhadas para exame pericial.** 2008.

LEMOS, A. **Falta de tecnologia pode ser entrave para Cannabis no Brasil.**

Disponível em:

<<https://www1.folha.uol.com.br/mercado/2020/12/falta-de-tecnologia-pode-ser-entrave-para-cannabis-no-brasil.shtml>>. Acesso em: 10 out. 2021.

LUBELL, J. D.; BRAND, M. H. **Foliar sprays of silver thiosulfate produce male flowers on female hemp plants.** HortTechnology, v. 28, n. 6, p. 743–747, 2018.

MCPARTLAND, J.M.; CLARKE, R. C.; WATSON, D. P. **Hemp Diseases and Pests: Management and Biological Control.** New York, CABI Publishing. 2000. 276p.

MCPARTLAND, J. M.; SMALL, E. **A classification of endangered high-THC cannabis (*Cannabis sativa* subsp. *indica*) domesticates and their wild relatives.** PhytoKeys, v. 144, p. 81–112, 2020.

MEDIAVILLA, V. et al. **Decimal code for growth stages of hemp (*Cannabis sativa* L.).** Journal of the international hemp association, v. 5, n. 2, p. 68–74, 1998.

MENU, S.; AKCEPTUJESZ, C. **Induction of Fertile Male Flowers in Genetically Female *Cannabis sativa* Plants by Silver Nitrate and Silver Thiosulphate Anionic Complex.** Theor. Appl. Genet., v. 375, p. 1–6, 2018.

MORRISSEY, K. et al. **Global Cannabis Report 2019 Industry Outlook.** New Frontier, 2019.

NAGY, D. U. et al. **Chemical Characterization of Leaves, Male and Female Flowers from Spontaneous Cannabis (*Cannabis sativa* L.) Growing in Hungary.** Chemistry and Biodiversity, v. 16, n. 3, 2019.

OLIVEIRA, N. **Cannabis medicinal: realidade à espera de regulamentação.**

Disponível em:

<<https://www12.senado.leg.br/noticias/infomaterias/2021/07/cannabis-medicinal-realidade-a-espera-de-regulamentacao>>. Acesso em: 10 out. 2021.

RAMAN, V. et al. **Morpho-Anatomy of Marijuana (*Cannabis sativa* L.) Vijayasankar.** *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology, p. 1–474, 2017.

- RENATO, N. DOS S. et al. **Influência dos métodos para cálculo de graus-dia em condições de aumento de temperatura para as culturas de milho e feijão.** Revista Brasileira de Meteorologia, v. 28, n. 4, p. 382–388, 2013.
- RIZZO, J. A. ***Cannabis sativa* L. (Maconha).** n. 1, p. 419–421, 1972.
- ROCHA, S. B. F. **Proposta de pesquisa sobre o comportamento agrícola de variedades de *Cannabis sativa* L. para uso medicinal e industrial cultivadas sob as condições edafoclimáticas do município de Viçosa-MG.** 2018.
- ROCHA, S. B. F. **Zoneamento agroclimático para o cultivo de *Cannabis sativa* L. para uso medicinal e industrial no Brasil.** [s.l.] Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, Rio Pomba, 2018.
- ROSENTHAL, Ed. **Marijuana Growers Handbook.** Oakland, EUA: Quick American a Division of Quick Trading Co., 2010.
- SANCHES, A. C. et al. **Vegetative development and growing degree-days of tropical and winter forages.** Engenharia Agrícola, v. 39, n. 2, p. 191–197, 2019.
- SARKANEN, K. V.; LUDIWING, C.H. (Eds). **Lignins: occurrence, formation, structure and reactions.** John Wiley e Sons, 1971. Cap. 6.
- SCHILLING, S. et al. **The cream of the crop: Biology, breeding, and applications of *Cannabis sativa*.** Annual Plant Reviews Online, v. 4, n. 2, p. 471–528, 2021.
- SCHUMACHER, A. G. D.; PEQUITO, S.; PAZOUR, J. **Industrial hemp fiber: A sustainable and economical alternative to cotton.** Journal of Cleaner Production, v. 268, 2020.
- SCOTT, R. W. (1979). **Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials.** Analytical Chemistry, 51(7), 936-940. <http://dx.doi.org/10.1021/ac50043a036>.
- SECHAT. **Suíça terá produção e comercialização de sementes de cânhamo.** Sechat, p. 1–6, 2020.
- SEEDS, T. **World ' s First 0 % THC , High CBD Hemp Cultivar Enters U . S . Market.** Disponível em: <https://www.prnewswire.com/news-releases/worlds-first-0-thc-high-cbd-hemp-cultivar-enters-us-market-301460021.html>. Acesso em: 7 mar. 2022.
- SHIMIZU, F. LANGE. **Remoção De Lignina E Hemicelulose: Influência Na Acessibilidade À Celulose E Sacarificação Enzimática.** p. 73, 2018.

SHOSHANNA, S. **Israeli startup says it has edited cannabis plant gene to resist fungus.** Disponível em:

<<https://www.timesofisrael.com/israeli-startup-says-it-has-edited-cannabis-plant-gene-for-fungus-resistance/>>. Acesso em: 7 mar. 2022.

SIKORA, V.; BERENJI, J.; LATKOVIĆ, D. **Influence of agroclimatic conditions on content of main cannabinoids in industrial hemp (*Cannabis sativa* L.).** Genetika, v. 43, n. 3, p. 449–456, 2011.

SMALL, E. **Cannabis A complete guide.** [s.l: s.n.].2016.

STACK, G. M. et al. **Season-long characterization of high-cannabinoid hemp (*Cannabis sativa* L.) reveals variation in cannabinoid accumulation, flowering time, and disease resistance.** GCB Bioenergy, v. 13, n. 4, p. 546–561, 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** [s.l: s.n.].

TANG, K. et al. **Comparing hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars for dual-purpose production under contrasting environments.** Industrial Crops & Products, v. 87, p. 33–44, 2016.

TANG, K. et al. **Water-and nitrogen-use efficiencies of hemp (*Cannabis sativa* L.) based on whole-canopy measurements and modeling.** Frontiers in Plant Science, v. 9, n. July, p. 1–14, 2018.

TAPPI T 222 om-02. **Acid-insoluble lignin in wood and pulp in: 2002-2003** TAPPI Test Methods, Tappi Press, Atlanta, GA, USA. 2002.

TAPPI T 249 cm-00. **Carbohydrate composition of extractive-free wood and wood pulp by gas-liquid chromatography in: 2002-2003** TAPPI Test Methods, Tappi Press, Atlanta, GA, USA TAPPI T222 cm-11. 2002.

TAPPI T 264 cm-97. **Preparation of wood for chemical analysis** Atlanta: Tappi Press, 1997.

TORKAMANEH, DAVOUD; JONES, A. **Cannabis, The Multibillion Dollar Plant That No Genebank Wanted.** Canadian Science Publishing, 2021.

TROFIN, I. G. et al. **Identification and characterization of special types of herbal cannabis.** UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science, v. 74, n. 1, p. 119–130, 2012.

UNODC. **Recommended Methods for the Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis Products**Recommended Methods for the Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis Products. [s.l: s.n.]. 2022.

VIEIRA, R. F. **Audiência Pública para discutir a proposta para liberação do plantio da Cannabis para fins medicinais**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Anais. 2020.

WALLIS, I. **Enzymes in poultry Nutrition**. Technical Note, SAC.West Mains road, Edinburgh. 1996

WILLIAMS, D. W. **An Introduction to Industrial Hemp and Hemp Agronomy**. Kentucky Cooperative Extension, v. 152, n. 3852, p. 230–230, 2018.

YOSHIMATSU, K. et al. **Growth characteristics of *Cannabis sativa* L. cultivated in a phytotron and in the field**. Journal of Environmental Conservation Engineering, v. 33, n. 5, p. 327–327, 2004.

ZIELONKA, D. M.; KIRAGA, Ł.; KOZŁOWSKI, R. M. **Medical potential of cannabis: An overview**. Handbook of Natural Fibres: Volume 2: Processing and Applications, p. 419–448, 2020.