

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente

Corso di laurea in Scienze e tecnologie agrarie

Effetti dello stress idrico in *Cannabis sativa* L.: analisi del fenotipo

Relatore

Prof. Stefano Bona

Correlatrici

Dott.ssa Maddalena Cappello Fusaro

Dott.ssa Irene Lucchetta

Laureando

Marco Sommacal

Matricola

1201452

Anno accademico 2023-24

Sommario	
Riassunto.....	5
Abstract.....	7
1. Introduzione.....	9
1.1. Storia e diffusione	9
1.2. Tassonomia, genetica e aspetti botanici	10
1.2.1 Tassonomia e genetica	10
1.2.2 Morfologia e fenologia	11
1.3. Cannabinoidi	12
1.4. Tecnica di coltivazione della canapa	14
1.4.1 Luce	14
1.4.2 Temperatura	15
1.4.3 Substrati di coltivazione	15
1.4.4 Concimazione	16
1.5. Il ruolo dell'acqua nella coltivazione della canapa	17
2. Scopo della ricerca.....	19
3. Materiali e metodi	21
3.1. Svolgimento della prova sperimentale	21
3.2. Analisi statistica	29
4. Risultati.....	31
4.1 Biomassa.....	31
4.2 Infiorescenze.....	34
4.3 <i>Harvest index</i>	38
4.4 Cannabinoidi	41
4.4.1 Cannabidiolo	41
4.4.2 Cannabinolo	45
4.4.3 Tetraidrocannabinolo	49
5. Discussione	53

6. Conclusioni	55
7. Bibliografia	57

Riassunto

Dopo una breve introduzione riguardante alcuni aspetti generali della pianta, la trattazione studia come l'acqua influenzi lo sviluppo di *Cannabis sativa* L., concentrandosi su come la produzione di biomassa, l'*harvest index*, le infiorescenze e il loro contenuto in termini di cannabinoidi varino al variare della disponibilità d'acqua. L'indagine si è svolta sotto forma di prova sperimentale presso la serra dell'azienda agraria dell'università, dove 120 esemplari di due varietà diverse (Feno Moon e Harlequin) sono stati sottoposti a stress di intensità crescente in momenti differenti dello sviluppo della pianta. A maturità avvenuta, è stata effettuata la raccolta delle infiorescenze, che sono poi state essiccate, seguite dal resto della pianta. I campioni sono a questo punto stati pesati e sottoposti ad analisi in laboratorio, che hanno evidenziato come nella varietà Feno Moon uno stress idrico moderato sia risultato in una produzione equivalente se non migliorativa in termini qualitativi e quantitativi delle infiorescenze. La varietà Harlequin ha invece mostrato un comportamento più erratico: da un lato infatti la carenza di acqua ha determinato un aumento del contenuto di cannabinoidi nelle infiorescenze e dell'*harvest index*, dall'altro la resa in termini di biomassa e infiorescenze è diminuita.

Questa prova ha quindi evidenziato come l'argomento meriti ulteriori approfondimenti, in quanto la prospettiva di molteplici varietà di *Cannabis sativa* L. dal comportamento simile a quello della varietà Feno Moon - che in caso di stress idrico moderato ha evidenziato la tendenza a migliorare in termini quantitativi e qualitativi la produzione - apre a scenari interessanti sia a livello ambientale grazie al risparmio di acqua, sia nel settore della cannabis medicinale, dove una più alta concentrazione di cannabinoidi nelle infiorescenze è un tratto di assoluta importanza.

Abstract

After a brief introduction regarding some general aspects of the plant, the discussion studies how water influences the development of *Cannabis sativa* L., concentrating on how biomass production, harvest index, inflorescences, and their cannabinoid content vary with changes in water availability. The investigation was carried out in the form of an experimental trial at the greenhouse of the university's agricultural company, where 120 specimens of two different varieties (Feno Moon and Harlequin) were subjected to increasing levels of stress at different stages of the plant's development. At maturity, the inflorescences were harvested and then dried, followed by the rest of the plant. The samples were then weighed and subjected to laboratory analysis, which revealed that in the Feno Moon variety, moderate water stress resulted in an equivalent or even improved production in terms of both the quality and quantity of the inflorescences. The Harlequin variety, on the other hand, exhibited a more erratic behavior: while water deficiency led to an increase in cannabinoid content in the inflorescences and the harvest index, the yield in terms of biomass and inflorescences decreased.

This trial has thus highlighted that the subject deserves further investigation, as the prospect of multiple *Cannabis sativa* L. varieties behaving similarly to the Feno Moon variety - which showed a tendency to improve quantitatively and qualitatively under moderate water stress - opens up interesting scenarios both environmentally, thanks to water savings, and in the medicinal cannabis sector, where a higher concentration of cannabinoids in the inflorescences is a crucial trait.

1. Introduzione

1.1 Storia e diffusione

La *Cannabis sativa* L. è una delle piante a più antica domesticazione da parte dell'uomo, già dai primi tempi del Neolitico (Malík et al., 2021; Rull, 2022). Il suo sviluppo viene solitamente collocato in Asia, nella parte occidentale e centrale del continente, e diversi studiosi indicano più precisamente come possibili luoghi d'origine le colline pedemontane dell'Himalaya e le pianure del Pamir, area compresa tra gli odierni Tajikistan, Afghanistan, Cina e Kirgizstan (Kuddus et al., 2013; Hourfane et al., 2023). Le prove del suo sfruttamento da parte dell'uomo vanno molto indietro nel tempo: la più antica prova di utilizzo è stata trovata nel 1997 in Repubblica Ceca sotto forma di una corda di fibra di canapa risalente al 26900 a.C. (Hourfane et al., 2023). Alcune evidenze archeologiche fanno risalire un suo utilizzo alimentare in Giappone a partire dall'ottavo millennio a.C. (McPartland et al., 2019), mentre per uno sfruttamento medico e psicotropo si arriva al 2700 a.C. in Cina e al 1550 a.C. in Egitto (Hourfane et al., 2023). Uno dei motivi di una così precoce domesticazione è la grande versatilità della pianta: i suoi frutti forniscono proteine e acidi grassi essenziali, le cellule del libro forniscono lunghe fibre impiegabili per fabbricare corde e vestiti, le sue infiorescenze contengono cannabinoidi, molecole dal vasto utilizzo in campo medico e ricreazionale (McPartland et al., 2019).

La canapa ha cominciato a disperdersi grazie al vento e ai flussi migratori di uccelli e mammiferi, umani inclusi, raggiungendo l'Europa, dove la coltivazione prese piede soprattutto a partire dal 500 a.C., in Sud America dal Cile nel 1545 e in Nord America a partire dal Canada nel 1606 (Viskovič et al., 2023), anche se recentemente sono state trovate evidenze che ne indicano l'utilizzo in Virginia, nella zona dei Grandi Laghi e nella valle del Mississippi in epoca pre-colombiana (Hourfane et al., 2023). La sua diffusione in Occidente subì un duro colpo nel 1937, quando negli Stati Uniti venne introdotto il Marihuana Tax Act, che applicando una tassazione proibitiva ai prodotti derivati dalla canapa e istituendo pesanti ammende e carcerazione per chi non ne dichiarava la vendita, rese impossibile la coltivazione dal punto di vista economico, sancendone di fatto l'illegalità di utilizzo e produzione (Ferraiolo, 2007). Le cause di questa decisione sono da attribuire alla fine del Proibizionismo, tensioni sociali e l'espansione dei prodotti di origine sintetica nell'industria tessile statunitense (Rodziewicz and Kayser, 2020). Nonostante ciò, la scoperta delle molte proprietà benefiche di interesse medico dei cannabinoidi, contenuti in quantità elevate soprattutto nelle infiorescenze, di cui molti studi evidenziano effetti positivi nella cura di dolore cronico, nausea, spasticità, depressione, glaucoma, psicosi, morbo di Parkinson, disturbi d'ansia e del sonno (Malík et al., 2021), ha dato un nuovo impulso a movimenti d'opinione per la sua reintroduzione, portando ad una nuova legalizzazione in molti stati degli Stati Uniti e a un suo

utilizzo come medicinale (Rodziewicz and Kayser, 2020). Nell'Unione Europea, dal 2014 al 2015 c'è stato un incremento del 75% della superficie di coltivazione e un incremento di produzione del 62,4% (Viskovič et al., 2023), testimonianza del fatto che la canapa in futuro è verosimile che assuma un'importanza ancora maggiore di quella odierna.

1.2 Tassonomia, genetica e aspetti botanici

1.2.1 Tassonomia e genetica

Cannabis sativa L. appartiene alla famiglia delle *Cannabaceae* (Steel et al., 2023). La classificazione del genere *Cannabis* si è rivelata fin da subito problematica, in quanto fin dal '700 non era chiaro se il genere fosse mono o politipico (Barcaccia et al., 2020). Nella seconda metà del '900 Small e Cronquist proposero un sistema a specie unica con due sottospecie, rispettivamente *Cannabis sativa* subsp. *sativa* e *Cannabis sativa* subsp. *indica*, distinzione ancora oggi condivisa da molti (Barcaccia et al. 2020). Tuttavia, classificazioni diverse sono state proposte nel corso degli anni, citiamo in questo luogo quella proposta da Hillig nel 2005, secondo cui il genere *Cannabis* dovrebbe presentare tre specie diverse, *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* e *Cannabis ruderalis* (Zhang et al., 2018).

A livello prettamente agronomico, una possibile suddivisione in gruppi di piante appartenenti alla specie *Cannabis sativa* L. può essere definita in base al prodotto finale che si vuole ricavare o meno, ricavandone quindi 4 gruppi distinti: piante erbacee e selvatiche, fuggite dai campi coltivati che crescono indipendenti in natura, piante da semi oleaginosi, piante da fibra e piante “*drug-type*” (Small, 2017). A livello genetico invece, *Cannabis sativa* L. è una specie diploide ($2n = 20$) con 9 coppie di cromosomi autosomici e una coppia di cromosomi sessuali (Kovalchuk et al., 2020). La determinazione del sesso della pianta è regolata da meccanismi ancora non del tutto chiari, con opinioni contrastanti tra diversi autori, e può essere influenzata da fattori ambientali quali stress abiotici; una sua comprensione sarebbe di grande aiuto in fase di breeding e coltivazione, in quanto al momento il sesso della pianta è determinabile solo in seguito alla comparsa delle infiorescenze femminili o maschili (Barcaccia et al., 2020).

1.2.2 Morfologia e fenologia

Cannabis sativa L. è una pianta solitamente dioica, ovvero rappresentata da individui con infiorescenze maschili e femminili distinte (Hourfane et al. 2023), anche se alcune cultivar possono essere monoiche o ermafroditi (Rodziewicz and Kayser, 2020). Le piante maschili completano il loro ciclo vitale dopo l'antesi (verso fine estate), mentre le piante femminili continuano a vegetare per permettere la maturazione del seme (verso l'autunno) (Small, 2015). Piante maschili, femminili

presentano un forte dimorfismo sessuale: le piante maschili sono più snelle, hanno fioritura precoce, presentano cellule della parete meno lignificate e fibre più sottili rispetto alle femminili le quali hanno un numero maggiore di foglie e cellule della parete con un maggior contenuto di lignina, tutte caratteristiche comuni anche alle piante monoiche (Petit et al., 2020).

Il suo apparato radicale è fittonante, con lunghezza del fittone fino a 30 cm e radici laterali con una lunghezza compresa tra i 20 e i 100 cm (Hourfane et al. 2023). Il fusto è scanalato e può raggiungere altezze tra 1 e 4 m e diametro tra 1 e 3 cm, con le variazioni che sono dovute a sottospecie, condizioni ambientali, climatiche e dalla composizione del suolo. Le foglie alla base del fusto solitamente crescono decussate, mentre avvicinandosi all'apice tendono a svilupparsi alternate; sono picciolate, palmato composte con un numero dispari (3-13) di foglioline grossolanamente seghettate e lanceolate (Small, 2015). I fiori maschili (Fig. 1) sono piccoli organi a forma di campana cresciuti raggruppati, e alla fine della crescita rilasciano il polline che andrà a fecondare i fiori femminili (Rodziewicz and Kayser, 2020).



Figura 1 - infiorescenze maschili

I fiori femminili (Fig. 2-3) non hanno petali e sono formati da due lunghi stigmi di colore giallo, bianco o viola. Il calice, di grandezza pari a 3-6 mm, avvolge l'ovario, al cui interno è presente una singola cellula uovo. I fiori femminili sono disposti in paia all'ascella delle brattee (Hourfane et al., 2023), piccole foglie unifogliate modificate strettamente associate ai fiori (Small, 2017); le infiorescenze maschili sono molto meno ricche di tricomi ghiandolari rispetto alle femminili.



Da sx a dx.; Figura 2 - infiorescenze femminili in maturazione; Figura 3 - infiorescenze femminili a maturità

Nel corso degli anni, le piante coltivate a fini medicinali e ricreativi sono state selezionate facendo sì che i fiori non fecondati crescessero il più vicini e compatti possibile, dando origine a quelle che volgarmente vengono chiamate “cime” ma il cui termine tecnico è “infiorescenze” (Small , 2017). I frutti sono acheni lisci, di forma ovoidale o sferica, di colore grigio e diametro di 2,5-3,5 mm (Hourfane et al., 2023).

In condizioni di sviluppo normali presenta un ciclo annuale, che però in alcuni casi può prolungarsi, con una conseguente diminuzione della resa (Rodziewicz and Kayser, 2020). La canapa è una pianta brevidiurna, quindi per promuovere una crescita vegetativa necessita di 18 ore di luce e 6 ore di buio al giorno (fotoperiodo 18/6), mentre per promuovere la fioritura necessita di almeno 12 ore di buio (fotoperiodo 12/12); se la soglia non viene raggiunta, le piante restano in fase vegetativa fino a che le condizioni non cambiano. Per questo motivo la pianta fiorisce a fine estate o inizio autunno. Tuttavia, le varietà della sottospecie *ruderalis*, hanno una fioritura indipendente dal fotoperiodo, infatti il tempo di fioritura dipende dal livello di maturità raggiunto dalla pianta, solitamente a 3 mesi dalla germinazione (Carlson et al., 2021).

1.3 Cannabinoidi

Cannabis sativa L. produce una grande quantità di cannabinoidi e altri metaboliti secondari, al momento sono stati individuati più di 113 cannabinoidi e più di 120 terpeni (Peterswald et al. 2023). I fitocannabinoidi (cannabinoidi di origine vegetale) appartengono alla famiglia chimica dei terpenofenoli, molto diffusi nelle piante, e si dividono in due gruppi: cannabinoidi neutri e cannabinoidi acidi, la cui differenza consiste nel numero di gruppi carbossilici che le molecole presentano. Sono sintetizzati a partire da isoprenoidi e acidi grassi precursori e contengono un'unità

funzionale monoterpeneica legata all'anello fenolico avente un carbonio alchilato in posizione 3 (Malik et al. 2021).

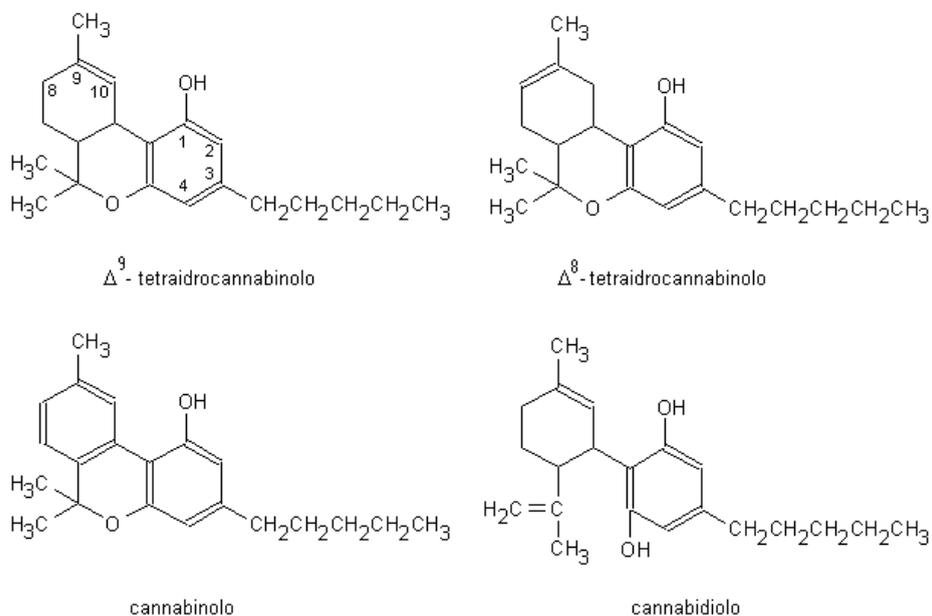


Figura 4 - Struttura dei principali cannabinoidi. Fonte: <https://www.dolcevitaeonline.it/altri-studi-sulle-proprietà-dei-cannabinoidi/>

I cannabinoidi più importanti (Fig. 4) e presenti in maggior quantità in *Cannabis sativa* L. sono il Δ^9 -tetraidroccannabinolo (Δ^9 -THC) e il cannabidiolo (CBD), definiti a volte come “cannabinoidi principali” a discapito dei molti altri cannabinoidi presenti, definiti “cannabinoidi minori” (Naim-Feil et al. 2023). Se assunti, interagiscono con il sistema endocannabinoide e possono avere, tra le molte funzioni in corso di studio, un’azione positiva nel trattamento di malattie non-comunicabili come disordine del sonno, sclerosi multipla, stimolazione dell’appetito ed epilessia (Peterswald et al. 2023). La loro produzione in *Cannabis* è molto elevata rispetto ad altri metaboliti secondari in altre piante: essi vengono sintetizzati, secreti e immagazzinati nei tricomi, strutture simil-pilifere localizzate in tutte le porzioni aeree della pianta ma che si concentrano soprattutto nei pressi delle infiorescenze pistillate (Naim-Feil et al. 2023). Alcuni studi affermano che la loro funzione sia quella di difesa contro fattori biotici (es. allontanare insetti fitofagi) che abiotici (es. difesa da luce UV e da stress nutrizionali) (Trancoso et al. 2022; Naim-Feil et al. 2023).

La loro concentrazione all’interno della pianta è regolata da fenomeni genetici complessi e ancora poco chiari ed è, come vedremo nel prossimo paragrafo, notevolmente influenzata dalle tecniche di coltivazione, soprattutto per quanto riguarda l’illuminazione, la concimazione e la gestione delle risorse idriche (Trancoso et al. 2022; Naim-Feil et al. 2023)

1.4 Tecnica di coltivazione della canapa

Cannabis sativa L. è una pianta che può crescere in un ampio range di ambienti diversi, anche se predilige le zone temperate, in particolare la fascia compresa tra il 42° e il 45° parallelo (Viskovič et al. 2023). Negli anni '90 è stata formulata una scala fenologica standardizzata riguardante la coltura, che ne suddivide il ciclo in 4 fasi principali: germinazione ed emergenza, fase vegetativa, fioritura e formazione dei semi, senescenza. Nel 2008 Amaducci propose un'ulteriore suddivisione della fase vegetativa in 3 momenti: fase giovanile (BVP), fase fotosensibile (PIP) e fase di sviluppo dei fiori (FDP) (Amaducci et al. 2014).

Molto diffusa, principalmente per le piante da cui si vogliono ricavare le infiorescenze, è la coltivazione indoor in serre, dove luce, temperatura e umidità possono essere controllate in maniera esatta e i rischi di malattia e infestanti (sia insetti che malerbe) sono drasticamente ridotti rispetto alla coltivazione outdoor, dove il principale vantaggio è il minor costo (Malík et al. 2021). Ulteriore fattore da considerare è che mentre nella coltivazione indoor sono possibili fino a 6 generazioni di coltivazione l'anno, outdoor il massimo è di 2 (Trancoso et al. 2022).

Nel presente lavoro discuteremo i principali fattori influenti sulla coltivazione della canapa.

1.4.1 Luce

Si può affermare che in generale le piante del genere *Cannabis* siano brevidiurne, anche se la diffusione mondiale della coltivazione della cannabis in tutte le latitudini ha portato naturalmente a sostanziali differenze genotipiche a livello di risposta al fotoperiodo. Tali differenze possono essere sfruttate a seconda dello scenario di coltivazione con cui si ha a che fare: ad esempio, alcune cultivar da fibra coltivate a latitudini più alte sono state selezionate affinché inizino a fiorire in corrispondenza di fotoperiodi relativamente brevi, in modo da allungare la fase vegetativa; viceversa, alcune cultivar “*drug-type*”, derivanti da genotipi di origine equatoriale, sono meno sensibili al cambio di fotoperiodo, così da fiorire più in base allo stato fenologico (sono chiamate anche “autoflorenti”) (Ahrens et al. 2023). Una metanalisi di 26 studi diversi suggerisce che la quantità di raccolto e la concentrazione di cannabinoidi possono essere massimizzate basandosi sulla durata dell'illuminazione in fase vegetativa, di 42 giorni per massimizzare il contenuto di THC e 40-50 giorni per massimizzare quello di CBD (Vernon et al. 2023).

Per la coltivazione indoor, le tipologie di lampade più utilizzate sono le lampade a fluorescenza (FL), le lampade ad alogenuri metallici (MH) e le lampade a sodio ad alta pressione (HPS), la cui differenza principale è la diversa capacità di trasformare l'energia elettrica in PAR. Ad esempio, le lampade MH producono una quantità insufficiente di luce rossa per produrre infiorescenze di

dimensioni elevate, dove invece le lampade HPS concentrano il loro spettro di luce sul giallo, rosso e arancione (Jin et al. 2019). Per raggiungere livelli ottimali di biomassa e di produzione di cannabinoidi è necessario applicare specifiche intensità luminosa, intensità di radiazione e lunghezza d'onda a seconda dello stadio fenologico della pianta, possibilmente alternando le varie tipologie di lampada: ad esempio, le lampade HPS sono spesso usate in fase vegetativa in quanto stimolano la crescita della pianta e aumentano la quantità di sostanza secca, le lampade LED in fioritura scaldano meno le piante e aumentano la concentrazione di cannabinoidi nelle infiorescenze (Malik et al. 2021).

1.4.2 Temperatura

La temperatura gioca un ruolo essenziale nella crescita di *Cannabis sativa* L.: essa cresce sotto un ampio ventaglio di condizioni termiche, anche se predilige i climi temperati, con temperature comprese tra i 16 e i 27 °C secondo alcuni studi (Adesina et al. 2020), tra i 25 e i 30 °C secondo altri (Vernon et al. 2023). La temperatura base per l'emergenza e la crescita vegetativa della canapa è di 1°C, mentre nel Mediterraneo alcuni studi affermano che richieda 1900-2000 GDD per la produzione di fibra e 2700-3000 GDD per la produzione di seme (Amaducci et al. 2014, Adesina et al. 2020).

1.4.3 Substrati di coltivazione

Cannabis sativa L. viene coltivata sia nel terreno che avvalendosi di sistemi *soil-free*, che si avvalgono di un medium in cui la pianta pone le sue radici, come ad esempio fibre di cocco, perlite, argilla espansa e lana di roccia o in cui la pianta presenta le radici immerse direttamente in acqua o all'aria (Malik et al. 2021; Vernon et al. 2023). Ognuno dei due sistemi presenta i suoi pro e i suoi contro: i substrati hanno una maggiore capacità di fungere da *buffer*, evitando scompensi improvvisi grazie a una loro funzione regolatrice; i sistemi *soil-less* invece permettono un controllo estremamente preciso della nutrizione della pianta, permettendo un più facile e veloce intervento in caso di problemi di nutrizione (Jin et al. 2019).

Un suolo (o un medium) adatto alla coltivazione della canapa dovrebbe avere un pH compreso tra 6.0 e 7.5, dovrebbe essere profondo, ben areato e con buona capacità di trattenimento dell'acqua. Per questo motivo, i suoli più indicati sono i terreni sabbiosi-argillosi e quelli franco-argillosi, mentre sono da evitare suoli sabbiosi e argillosi pesanti, soprattutto perché nei primi non viene trattenuta acqua a sufficienza, nei secondi invece perché, in caso di compattamento e formazione di uno strato superficiale più duro, il fittone non riuscendo a penetrare assume una forma a L che ne inibisce l'assorbimento (Amaducci et al. 2014). Nei sistemi *soil-less* invece, il pH va mantenuto tra

5.8 e 6.0; in caso di oscillazioni fuori da tale intervallo la capacità della pianta di assorbire i nutrienti dalla soluzione diminuirà fino ad arrestarsi del tutto. Per quanto riguarda la EC il limite da non superare per non limitare la produzione è di 3.0 mS/cm, anche se la letteratura scientifica in materia è ancora scarsa (Vernon et al. 2023).

È credenza comune che grazie ai sistemi *soil-less* le piante crescano più velocemente e producano un raccolto maggiore: alcuni studi smentiscono tale convinzione, evidenziando che non ci siano aumenti in produzione e velocità significativi a fronte di spese in attrezzatura, competenze richieste e monitoraggio costante maggiori (Jin et al. 2019).

1.4.4 Concimazione

Per quanto riguarda la fertilizzazione di *Cannabis sativa* L. coltivata a scopo medico esiste al momento poca letteratura, mentre per quella da fibra abbiamo più informazioni a disposizione: la risposta alla concimazione della canapa da fibra permette di fare delle considerazioni su quella a scopo medico, tenendo presente però che la prima viene coltivata quasi esclusivamente all'aperto e che è stata soggetta a selezione per la produzione di fibre, facendo sì che acquisisse caratteristiche che la distinguono dalla seconda (Malík et al. 2021). Per questo motivo, se non esplicitamente specificato, le informazioni del presente paragrafo riguardano la canapa da fibra.

L'azoto è l'elemento più importante per la crescita, lo sviluppo e il raccolto della pianta: aumentare la sua applicazione causa un aumento nel contenuto di clorofilla, un migliore funzionamento del fotosistema II, un aumento della fotosintesi, dell'altezza della pianta, del diametro del fusto e dell'accumulo di biomassa; una sua carenza provoca danni alle membrane cellulari e una riduzione della biomassa causata da una diminuzione della LAI (Valiaparambil Sebastian et al. 2023). Alcuni studi affermano che la fertilizzazione con azoto vada fatta in base alla fertilità del suolo, in quanto una sua aggiunta in suoli ricchi causa una risposta negativa della coltura, mentre nei suoli carenti di azoto tale aggiunta ha generato effetti positivi: un eccesso di azoto stimola un allungamento del fusto molto veloce rendendo la coltura più suscettibile ad allettamento, riduce il contenuto di THC nelle foglie (Adesina et al. 2020). L'azoto va applicato alla semina per avere dei buoni risultati, alcuni studi infatti mostrano che un'applicazione successiva non sortisce gli stessi effetti (Amaducci et al. 2014). Per la canapa coltivata a scopo medico indoor se il substrato di coltura manca di nutrienti, tale mancanza va colmata utilizzando diversi fertilizzanti a seconda della fase fenologica della pianta; bisogna però tener presente che è sconsigliato utilizzare fertilizzanti organici nella coltivazione idroponica, perché fermentano e causano contaminazione da microorganismi e intasamento (Jin et al. 2019). Per quanto riguarda il rapporto N:P:K, alcuni studi hanno individuato

una proporzione ottimale di 4:1.3:1.7 durante la fase vegetativa e di 2:0.87:3.32 durante la fioritura (Jin et al. 2019).

Secondo alcuni studi, *Cannabis sativa* L. è meno influenzata dalla concimazione con K e P rispetto a quella azotata (Amaducci et al. 2014; Adesina et al. 2020; Valiaparambil Sebastian et al. 2023). Ciononostante, alcuni ricercatori indicano come il potassio sia fondamentale soprattutto nella formazione delle fibre e una sua mancanza pregiudica un buon raccolto, mentre il fosforo, se presente in quantità eccessiva vicino ai semi, ne determina con maggior frequenza la morte (Viskovič et al. 2023). Una così ampia discordanza di pareri sull'effetto dei vari elementi nella concimazione sembra poter essere giustificata dalla grande importanza rivestita dal genotipo della pianta nei confronti della risposta alla coltivazione, il che indica che la questione andrebbe approfondita studiando a fondo il problema in futuro (Malík et al. 2021).

1.5 Il ruolo dell'acqua nella coltivazione della canapa

Alcuni studi affermano che *Cannabis sativa* L. sia una specie ad alto consumo d'acqua (Trancoso et al. 2022), altri che invece sia una specie a basso consumo d'acqua (Valiaparambil Sebastian et al. 2023). Quello che è certo è che sono necessari studi più approfonditi per comprendere meglio molti aspetti del rapporto tra *Cannabis sativa* L. e l'acqua, dato che sono molte le aree in cui fare chiarezza. La richiesta d'acqua da parte della pianta varia molto in base al genotipo, all'area di coltivazione e alle pratiche agronomiche implementate (Trancoso et al. 2022). La canapa è in grado di sviluppare il proprio apparato radicale in profondità anche notevoli (fino a 2 m), ma perché esso arrivi a un buon livello di formazione e riesca a svolgere la sua attività, che permette alla pianta di resistere relativamente bene agli stress, è fondamentale che soprattutto nella prima fase di crescita l'acqua a disposizione sia molta e costante, senza che avvengano stress idrici (Blandinières and Amaducci 2022). L'importanza dell'acqua nella coltivazione di *Cannabis sativa* L. è ulteriormente certificata dal fatto che sia molto spesso il fattore limitante per quanto riguarda la produzione e la qualità delle fibre (Blandinières and Amaducci 2022).

L'irrigazione va studiata in base alla tecnica di coltivazione e al prodotto che si vuole ricavare dalla pianta: nel caso di piante da fibra o da seme è bene procedere con un'irrigazione puntuale in modo da non limitare la produzione di fibre e semi, che risentirebbero di un eventuale stress idrico; al contrario, alcuni studi indicano che stress idrici controllati anticipino la fioritura e la concentrazione di cannabinoidi nelle infiorescenze, anche se non tutte le ricerche concordano in questo (Blandinières and Amaducci 2022; Trancoso et al. 2022; Duong et al. 2023).

2. Scopo della ricerca

L'obiettivo del presente studio è quello di studiare l'impatto di differenti livelli di stress idrico su *Cannabis sativa* L. Lo stress è stato applicato su 120 esemplari di due differenti varietà di canapa in due fasi fenologiche diverse, rispettivamente in fase vegetativa e durante la fioritura, ad intensità crescente. Dopo maturità e in seguito alla raccolta, si sono quindi misurati alcuni parametri quali peso secco della biomassa prodotta, *harvest index*, peso secco e contenuto in cannabinoidi delle infiorescenze. La successiva analisi statistica ha avuto quindi l'obiettivo di capire come lo stress idrico influenzi la produzione sia in termini qualitativi che quantitativi tramite la ricerca di correlazione statisticamente significativa dei parametri sopra elencati.

3. Materiali e metodi

3.1 Svolgimento della prova sperimentale

In data 6 dicembre 2023 a Legnaro (PD), presso l'azienda agraria sperimentale L. Toniolo dell'Università degli Studi di Padova, 130 vasi da 4,5 litri sono stati riempiti di 2 kg di substrato composto da un miscuglio con il 50% v/v di sabbia e torba. I vasi presentavano 4 fori alla base per lo scolo dell'acqua in eccesso; per far sì che lo scolo non fosse eccessivo, sulla base degli stessi sono stati posizionati dei ritagli di geotessuto filtrante di dimensione comparabile tra loro. Il substrato utilizzato è stato prelevato da un recipiente esposto all'aria aperta e il procedimento ha avuto inizio alle 9 di mattina e si è concluso alle 15, rendendo possibile una variazione in umidità dei vasi riempiti a orari diversi. Nell'operazione di pesatura è stata adoperata una bilancia con sensibilità al decimo di grammo, garantendo una variazione trascurabile nel peso del substrato.

Una volta completata questa fase, è avvenuto il trapianto di 130 piantine di *Cannabis sativa* L., metà di varietà commerciale Feno Moon e metà di Harlequin, acquistate presso la società agricola Weedaloca. Per permettere un preliminare calcolo del coefficiente di avvizzimento, 3 vasi con solo substrato sono stati tenuti da parte.

I vasi sono stati posizionati all'interno della serra dell'azienda agraria universitaria, sotto a lampade HPS, seguendo un fotoperiodo di 18/6, quindi 18 ore di luce seguite da 6 ore di buio e hanno ricevuto 60 ml di soluzione nutritiva avente EC di 0,8 e pH pari a 5,7 a giorni alterni con la composizione riportata in Tabella 1.

Tabella 1: composizione soluzione nutritiva

Fertilizzante liquido	Composizione miscela	
	Componente	Contenuto (peso su peso)
Canna vega A - fase vegetativa	Nitrato di calcio	10 - 20%
	Nitrato di potassio	5 - 10%
	Nitrato di ammonio	10 - 16%
	Nitrato di magnesio	0,1 - 1%
Canna vega B - fase vegetativa	Solfato di potassio	5 - 10%
	Acido fosforico 59%	1 - 5%
	Nitrato di potassio	1 - 5%
	Acido nitrico 38%	0,1 - 1%
Canna vega A - fase fioritura	Nitrato di potassio	10 - 20%

	Nitrato di calcio	10 - 20%
	Nitrato di ammonio	1 - 5%
Canna vega B - fase fioritura	Solfato di potassio	1 - <3%
	Acido nitrico 38%	0,1 - 2%

I 120 vasi appartenenti alla prova sono stati suddivisi in gruppi come riportato nella Tabella 2 e disposti seguendo uno schema sperimentale di tipo split-plot (Fig. 5) e etichettati con un codice alfa-numerico univoco di tipo N.M XY_Z:

- N = 1 per il blocco 1, quindi le piante poste sul tavolo 1, N = 2 per il blocco 2, quindi le piante poste sul tavolo 2
- M = 1, 2, 3, 4, 5 per distinguere univocamente le 5 piante di ogni parcella
- X = A per le piante di varietà Feno Moon e X = B per le piante di varietà Harlequin
- Y = C per le piante che sarebbero state sottoposte in seguito a stress idrico con quantità di acqua presente nel vaso pari al 90% del totale raggiungibile (gruppo Controllo), Y = M per le piante con una quantità d'acqua pari al 60% (stress idrico Moderato), Y = S per le piante con una quantità d'acqua pari al 30% (stress idrico Severo)
- Z = V per le piante che sarebbero state sottoposte a stress idrico durante la loro fase vegetativa, Z = F per le piante sottoposte a stress idrico in fase di fioritura

Tabella 2 - Elenco trattamenti

Plot	Block	Variety	Treatment	Time	Number of plants per plot
1AC_V	1	A	Control	Vegetative	5
1AM_V	1	A	Moderate	Vegetative	5
1AS_V	1	A	Severe	Vegetative	5
1BC_V	1	B	Control	Vegetative	5
1BM_V	1	B	Moderate	Vegetative	5
1BS_V	1	B	Severe	Vegetative	5
2AC_V	2	A	Control	Vegetative	5
2AM_V	2	A	Moderate	Vegetative	5
2AS_V	2	A	Severe	Vegetative	5
2BC_V	2	B	Control	Vegetative	5
2BM_V	2	B	Moderate	Vegetative	5
2BS_V	2	B	Severe	Vegetative	5
				Total	60

Plot	Block	Variety	Treatment	Time	Number of plants per plot
1AC_F	1	A	Control	Flowering	5
1AM_F	1	A	Moderate	Flowering	5
1AS_F	1	A	Severe	Flowering	5
1BC_F	1	B	Control	Flowering	5
1BM_F	1	B	Moderate	Flowering	5
1BS_F	1	B	Severe	Flowering	5
2AC_F	2	A	Control	Flowering	5
2AM_F	2	A	Moderate	Flowering	5
2AS_F	2	A	Severe	Flowering	5
2BC_F	2	B	Control	Flowering	5
2BM_F	2	B	Moderate	Flowering	5
2BS_F	2	B	Severe	Flowering	5
				Total	60

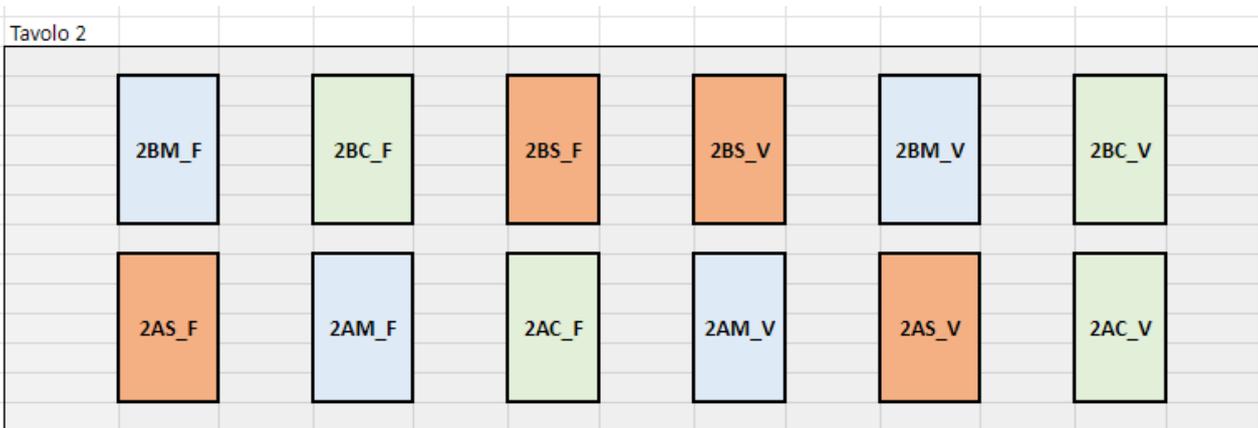
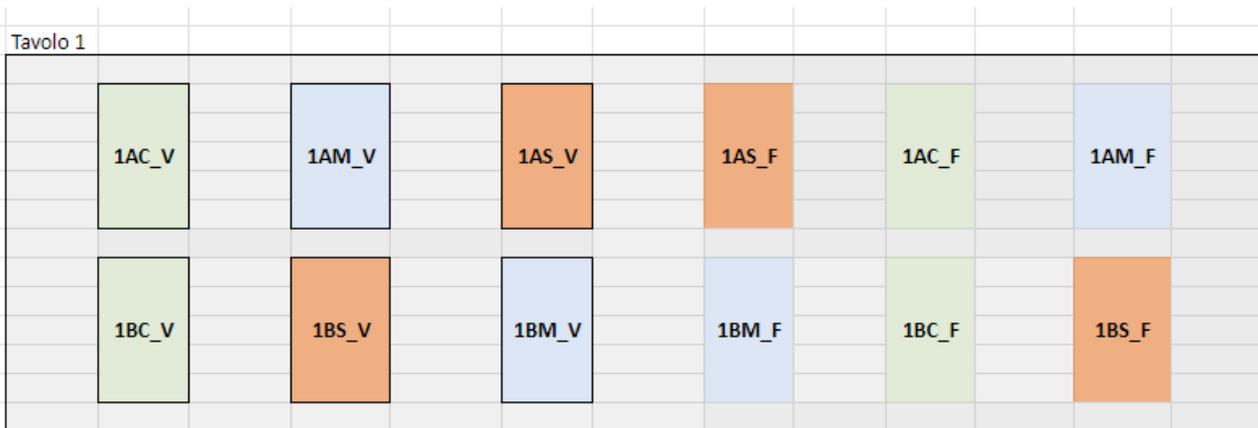


Figura 5 - Schema rappresentante la disposizione delle piante durante la prova

Il giorno 06 dicembre i 3 vasi di solo substrato sono stati portati alla capacità di campo (CC) e pesati, ammontando rispettivamente a 2722.2 g, 2298.7 g e 2098.8 g. In data 13 gennaio 2024 i 3

vasi sono stati pesati nuovamente e, non essendo stati più innaffiati, si sono supposti aventi un quantitativo d'acqua al loro interno pressoché nullo, e una volta pesati hanno restituito rispettivamente i valori di 2216.4 g, 1832.1 g e 1664.7 g. Facendo la media dei pesi alla capacità di campo e sottratta ad essa la media dei pesi a vaso asciutto, per ipotesi si è ricavato il peso in acqua contenuto all'interno di ciascun vaso, corrispondente a circa 460g.

Il 13 gennaio 2024 ha avuto inizio la prova vera e propria per le 60 piante che sarebbero state sottoposte a stress idrico in fase vegetativa, contraddistinte da codice con al termine la lettera V: le piante sono state bagnate abbondantemente causando una forte percolazione, e dopo un'ora sono state pesate una a una con la stessa bilancia con sensibilità al decimo di grammo per rilevare il loro peso alla capacità di campo. A questo punto, supposta a 460 g la quantità massima d'acqua contenibile dai loro vasi per raggiungere la capacità di campo, per ogni piantina si è deciso di condurre uno stress idrico della durata di 10 giorni a partire dal raggiungimento del peso corrispondente al livello di stress.

Per calcolare il peso da raggiungere di ogni piantina per sancire la sua entrata in stress si è sottratto al peso rilevato alla capacità di campo per le piantine di controllo (gruppo con C nel nome) il 10% di acqua contenibile nei vasi (46 g, ricavati facendo il 10% dei 460 g di acqua contenibile nei vasi calcolati in precedenza), il 40% per il gruppo di stress moderato (184 g, 40% di 460 g) e il 70% per il gruppo di stress severo (322 g, 70% di 460 g).



Figura 6 - Da sx a dx: le piante 1.1 AS_V, 1.1 BM_V, 1.2 AC_V fotografate di fronte e dall'alto il 15/01/24



Figura 7 - Da sx a dx: le piante 2.3 BS_V, 2.3 AM_V, 2.4 BC_V fotografate di fronte e dall'alto il 15/01/24

A partire dal giorno seguente 14 gennaio 2024, ogni giorno alle 14:30 tutte le piante in prova sono

state pesate con la stessa bilancia con sensibilità al decimo di grammo che non è mai stata spostata di posto per evitare differenze. Una volta raggiunto il peso target (calcolato come descritto in precedenza), ha avuto inizio il conteggio dei 10 giorni di stress: in questo periodo ogni giorno ogni pianta in stress è stata pesata (in Fig. 6-7 alcune piante nei primi giorni della prova). La differenza in g tra il peso target e quello raggiunto in quel giorno specifico è stata aggiunta a ogni pianta come soluzione nutritiva. La soluzione nutritiva utilizzata presentava un EC di 0,8 e un pH pari a 5,7.

Con il passare dei giorni, le piante numero 1.3AS_V, 1.4AS_V, 1.4BS_V, 2.3AS_V, 2.4AS_V, 2.2BS_V, 2.4BS_V e 2.5BS_V non davano segno di raggiungere il peso target nonostante visivamente dessero segnali di grande sofferenza da stress idrico, motivo per cui il giorno 21/01/24 si è deciso di modificare il peso target al rialzo prendendo come riferimento il peso raggiunto in quel giorno e aggiungendo 10 g di soluzione nutritiva e di far quindi iniziare loro lo stress in quel momento. Il cambio di metodologia, dettato dalla visibile sofferenza delle piante, è da imputare a un probabile errore nella stima dell'acqua contenibile all'interno dei vasi, e quindi conseguentemente del peso alla capacità di campo e dello stress idrico raggiunto.

Una volta finito il periodo di stress, ciascuna pianta è stata innaffiata di acqua fino a raggiungere la percolazione. Una volta finito il gocciolamento (dopo un'ora circa), si è assunto il raggiungimento della capacità di campo da parte delle piante, e sono state nuovamente pesate. Si è notato un peso molto maggiore a quello della corrispondente capacità di campo subito prima dell'inizio della prova, circostanza dovuta molto probabilmente all'imbibizione delle particelle di sostanza organica presenti nel terreno che solo dopo ripetuto innaffiamento sono riuscite a idratarsi completamente (a inizio prova l'innaffiamento era stato unico e probabilmente non era bastato a idratarle del tutto).



Figura 8 - Da sx a dx: le piante 1.1 AS_V, 1.1 BM_V, 1.2 AC_V fotografate di fronte e dall'alto il 02/02/24

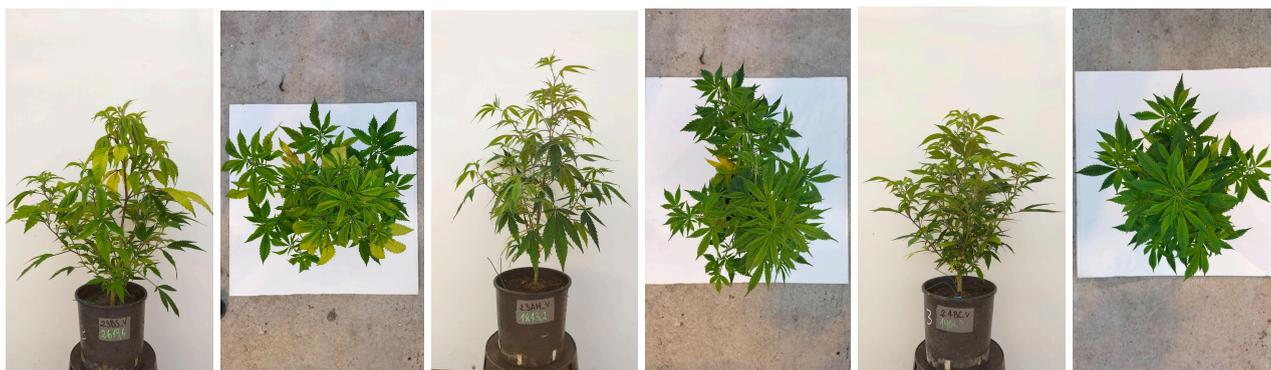


Figura 9 - Da sx a dx: le piante 2.3 BS_V, 2.3 AM_V, 2.4 BC_V fotografate di fronte e dall'alto il 02/02/24

A tutte le 60 piante fuori prova, ogni giorno è stato aggiunto un quantitativo di soluzione nutritiva pari a circa 80 ml, media calcolata approssimativamente osservando la quantità d'acqua evapotraspirata ogni giorno dalle piante del gruppo di controllo. Anche la somministrazione di questi 80 ml è stata approssimativa in quanto le piante fuori prova non sono state pesate quotidianamente. Man mano che le piante in prova raggiungevano il decimo giorno di stress (in Fig. 8-9 alcune piante alla fine della prova), sono state anch'esse innaffiate quotidianamente con 80 ml d'acqua.

A partire dal giorno 5 febbraio, a periodo di stress idrico in fase vegetativa ormai concluso, a tutte e 120 le piante sono stati addizionati 120 ml di soluzione nutritiva avente EC pari a 1,6 e un pH di 5,7.

Successivamente, il giorno 7 febbraio è stato cambiato il fotoperiodo per indurre le piante a fioritura, programmando le lampade della serra per arrivare ad una suddivisione luce/buio di 12/12.

Il giorno 11 marzo ha avuto inizio il periodo di stress in fioritura, seguendo esattamente lo stesso procedimento utilizzato per il periodo di stress in vegetativa. La soluzione nutritiva utilizzata presentava una EC pari a 1,6 e un pH di 5,7.

Prima dell'inizio della prova (Fig. 10-11 alcune piante a inizio prova), per due giorni le piante sono state innaffiate fino a raggiungere il percolamento per far sì che la sostanza organica presente nei vasi si imbibisse completamente, aumentando notevolmente il peso delle piante e evidenziando che la stima di 460 g di acqua contenibili all'interno dei vasi fosse senza alcun dubbio molto bassa. Ciononostante, per mantenere una metodologia consistente e uguale a quella usata nello stress vegetativo, si è deciso di utilizzare come peso teorico alla capacità di campo quello del primo giorno di bagnatura.



Figura 10 - Da sx a dx: le piante 1.1 AS_F, 1.1 BM_F, 1.2 AC_F fotografate di fronte e dall'alto l'11/03/24



Figura 11 - Da sx a dx: le piante 2.3 BS_F, 2.3 AM_F, 2.4 BC_F fotografate di fronte e dall'alto l'11/03/24

Similmente ad alcune piante che avevano accusato tale problema durante la fase di stress in fase vegetativa, la pianta numero 1.5AS_F mostrava segni di grande sofferenza senza però raggiungere il peso target deciso a priori. Per questo motivo, il giorno 20 marzo si sono aggiunti 30 g di soluzione nutritiva e si è deciso di fissare il peso così raggiunto come peso target.

Durante la prova, il volume della vegetazione e l'aumentato peso delle piante dovuto alla loro crescita e alla comparsa delle infiorescenze, ha reso necessario l'utilizzo di bastoni a cui legare le piante per far sì che non si piegassero eccessivamente verso il basso. Il peso del bastone in fase di pesatura è stato tolto dal calcolo per non alterare le misurazioni.



Figura 12 - Da sx a dx: le piante 1.1 AS_F, 1.1 BM_F, 1.2 AC_F fotografate di fronte e dall'alto il 29/03/24



Figura 13 - Da sx a dx: le piante 2.3 BS_F, 2.3 AM_F, 2.4 BC_F (in basso) fotografate di fronte e dall'alto il 29/03/24

Alle piante fuori prova e a tutte quelle in prova dopo la conclusione del periodo di stress (Fig. 12-13 alcune piante a fine prova), sono stati addizionati quotidianamente circa 200 ml di soluzione nutritiva (numero calcolato facendo una media del peso perso in un giorno dalle piante fuori prova) fino al giorno prima della raccolta.

La raccolta delle infiorescenze è stata effettuata il giorno 3 aprile per le 60 piante della varietà Harlequin e il successivo 4 aprile per le piante della varietà Feno Moon.

La raccolta è stata effettuata manualmente, servendosi di cesoie. Soltanto le infiorescenze sono state tagliate (Fig. 14), mentre il fusto e le foglie sono stati lasciati interi nel vaso. Le infiorescenze fresche sono state pesate (Fig. 15) e messe in essiccatoio con temperatura media di 30°C e umidità 50%, per 12 giorni circa; finché l'umidità delle infiorescenze non è risultata al di sotto del 10%. Eventuali foglie inevitabilmente perse durante il taglio sono state raccolte, pesate e poste in essiccatoio a 65°C.



Figura 14 - Infiorescenze dopo la raccolta. Fotografia del 04/04/24



; Figura 15 - Infiorescenze durante la pesatura. Fotografia del 04/04/24

Dopo la raccolta le piante non hanno più ricevuto acqua. Queste, man mano che si seccavano, venivano tagliate e pesate; in questo modo, pesando successivamente solamente il vaso, è stato possibile ottenere il giusto peso di ognuno alla capacità di avvizzimento (CA). Le piante sono state poste in essiccatoio a 65°C per 3 giorni, dopodiché sono state pesate, macinate e portate in laboratorio per le analisi Kjeldahl.

Il giorno 15 aprile, una volta raggiunto un livello di umidità sufficientemente basso, le infiorescenze sono state pesate, in modo da ottenere il loro peso secco e quindi la resa finale di infiorescenze.

3.2 Analisi statistica

L'analisi statistica dei dati è stata condotta utilizzando il software Statgraphics. Per determinare se esistessero differenze significative tra le differenti tesi sono stati eseguiti i seguenti test:

Analisi della Varianza (ANOVA): questo test è stato utilizzato per confrontare le medie dei diversi fattori considerati, al fine di rilevare eventuali differenze statisticamente significative.

Test di Confronto Multiplo di Tukey (Tukey's HSD): in seguito all'ANOVA, è stato applicato questo test post-hoc per identificare esattamente quali coppie di fattori presentassero differenze significative.

Questi strumenti statistici hanno permesso di valutare in modo rigoroso le differenze tra i fattori studiati e di fornire una base solida per le conclusioni del lavoro.

4. Risultati

4.1 Biomassa

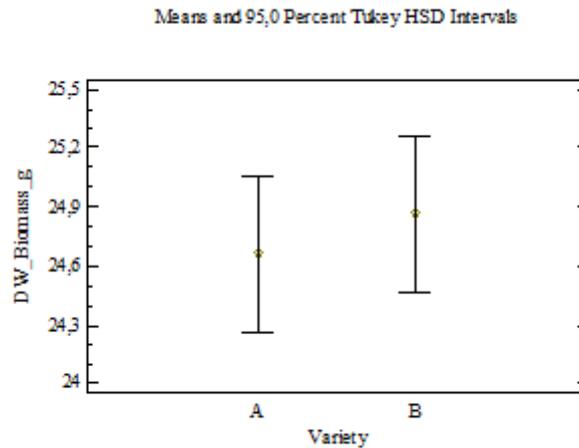


Figura 16 - Confronto tra le medie dei pesi secchi delle biomasse in g delle piante di varietà A (Feno Moon) e B (Harlequin) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

L'analisi dei campioni delle due diverse varietà non ha mostrato differenze significative in termini di produzione di biomassa secca (Fig. 16), con la varietà A che presenta una media di 24,66 g e la varietà B 24,87 g.

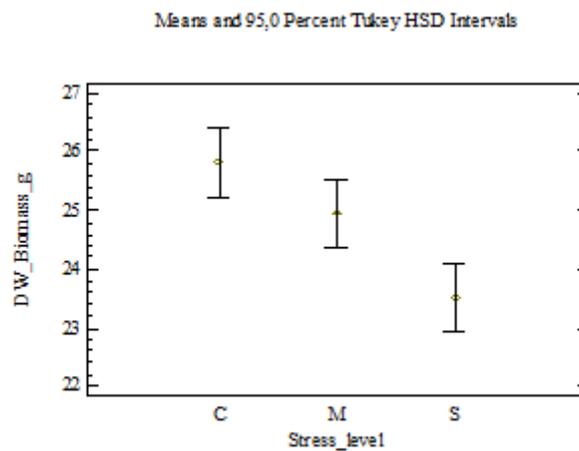


Figura 17 - Confronto tra le medie dei pesi secchi delle biomasse in g delle piante dei gruppi C (controllo), M (stress idrico moderato) ed S (stress idrico severo) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Il grafico riportato in Fig. 17 suggerisce che la produzione di biomassa da parte della pianta diminuisca all'aumentare dello stress idrico: il peso secco medio della biomassa nel gruppo di controllo C (25,83 g) è infatti significativamente maggiore di quello delle piante sottoposte a stress severo S (23,51 g). Le piante sottoposte a stress moderato M presentano un peso secco medio di 24,95 g, significativamente diverso dal gruppo S, ma non dal gruppo C. Si osserva comunque una

tendenza generale alla riduzione della biomassa con l'aumento del livello di stress, con il gruppo M che occupa una posizione intermedia.

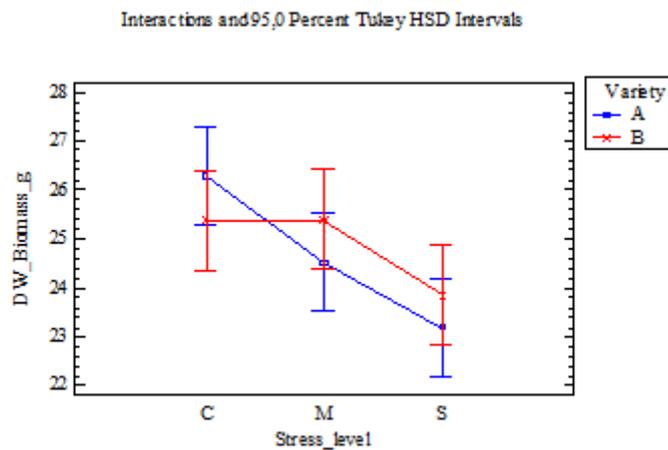


Figura 18 - Confronto tra le medie dei pesi secchi delle biomasse in g delle piante dei gruppi C (controllo), M (stress idrico moderato) ed S (stress idrico severo) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey divise per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin).

Nell'interazione tra varietà e diversi livelli di stress (Fig. 18), l'unica differenza significativa che si può riscontrare è tra il gruppo C della varietà A (media del peso secco della biomassa di 26,29 g) e il gruppo S (23,18 g). Si può notare una tendenza alla riduzione della biomassa prodotta con l'aumentare del livello di stress nella varietà A (M = 24,52 g valore intermedio tra C ed S), mentre ciò non accade nella varietà B, che per i trattamenti C, M ed S presenta, rispettivamente le medie 25,37 g, 25,38 g, 23,85 g.

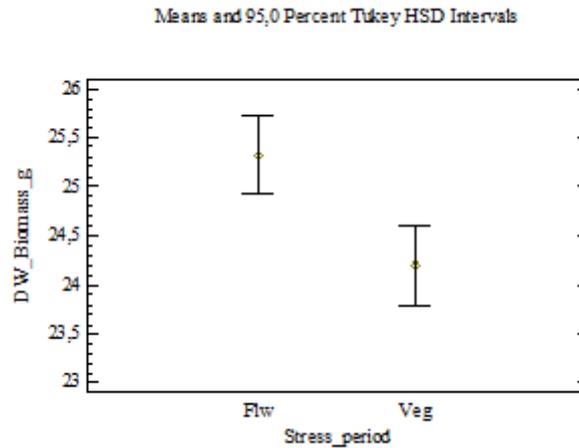


Figura 19 - Confronto tra le medie dei pesi secchi delle biomasse in g delle piante dei gruppi Flw (stress idrico avvenuto durante la fioritura) e Veg (stress idrico avvenuto durante la fase vegetativa) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

I risultati delle analisi, riportati qui in Fig. 19, hanno evidenziato che i pesi secchi medi della biomassa delle piante sottoposte a stress idrico durante la fioritura (25,33 g) sono significativamente più alti di quelli delle piante sottoposte a stress durante la fase vegetativa (24,2 g).

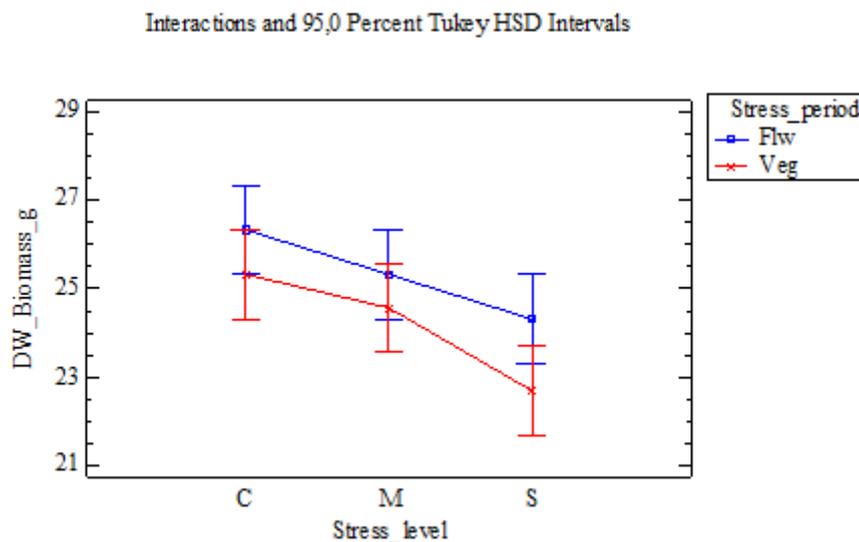


Figura 20 - Confronto tra le medie dei pesi secchi delle biomasse in g delle piante dei gruppi C (controllo), M (stress idrico moderato) ed S (stress idrico severo) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per momento dello stress (Flw = stress in fioritura, Veg = stress in fase vegetativa)

Nell'interazione tra i diversi livelli e periodi di stress, l'unica differenza significativa rilevabile, per quanto riguarda il peso di biomassa secca (Fig. 20), è quella tra i gruppi C (peso secco medio di 25,33 g in fase vegetativa e 26,32 g in fioritura) ed S (22,7 g in fase vegetativa e 24,32 g in fioritura) per entrambi i periodi di stress. Si può osservare una tendenza generale delle piante in stress vegetativo a diminuire la biomassa con l'intensificarsi dello stress. Nonostante l'assenza di

differenza significativa delle biomasse delle piante in stress vegetativo con quelle in stress in fioritura, l'andamento generale che si profila in Fig. 20 è concorde con i risultati della Fig. 19.

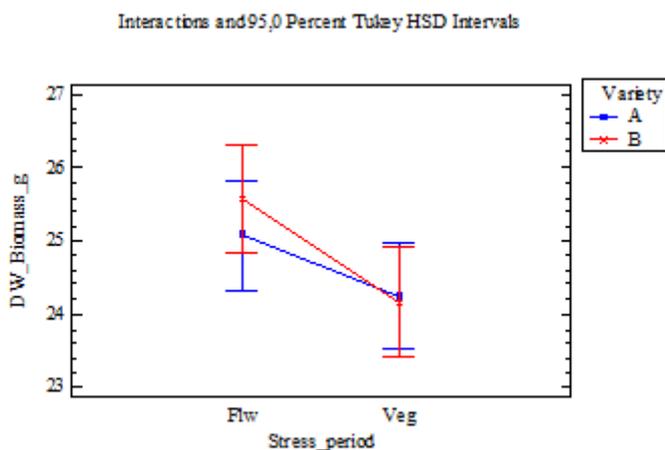


Figura 21 - Confronto tra le medie dei pesi secchi delle biomasse in g delle piante dei gruppi Flw (stress idrico avvenuto durante la fioritura) e Veg (stress idrico avvenuto durante la fase vegetativa) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin).

Nonostante l'assenza di differenza significativa, in Fig. 21 emerge un andamento decrescente in produzione di biomassa dallo stress in fioritura a quello vegetativo concorde con i risultati della Fig. 19 sia per quanto riguarda la varietà A (Flw = 25,88 g, Veg = 25,04 g) che per la varietà B (Flw = 26,37 g, Veg = 24,96 g).

4.2 Infiorescenze

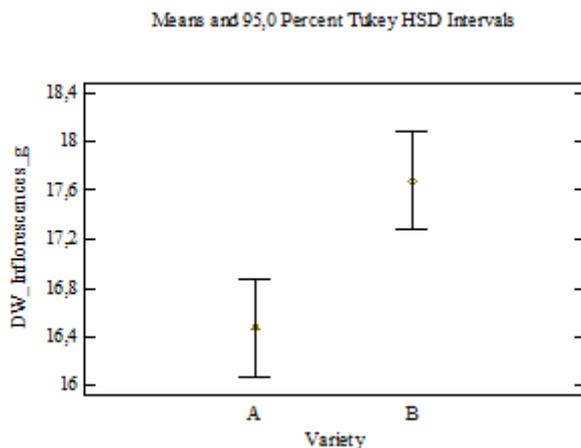


Figura 22 - Confronto delle medie dei pesi secchi in g delle infiorescenze delle piante della varietà A (Feno Moon) e della varietà B (Harlequin) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

La varietà B presenta un peso medio delle infiorescenze prodotte per pianta pari a 17,68 g, significativamente più alto rispetto al peso medio delle infiorescenze della varietà A di 16,47 g (Fig. 22).

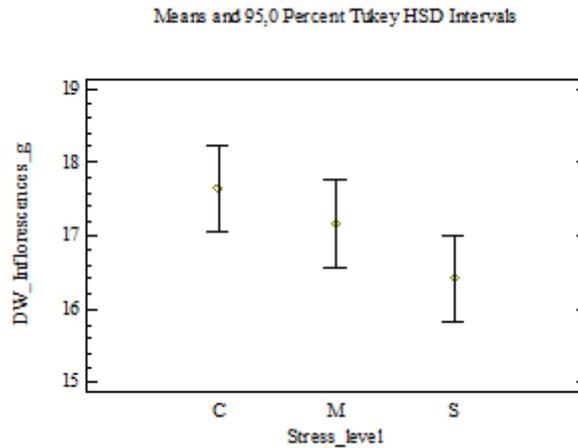


Figura 23 - Confronto delle medie dei pesi secchi in g delle infiorescenze delle piante del gruppo C (di controllo), M (stress idrico moderato) ed S (stress idrico severo) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Confrontando il peso secco delle infiorescenze emerge una differenza significativa solo tra il controllo (17,64 g) e il trattamento in stress idrico severo (16,42 g) (Fig. 23). Le infiorescenze delle piante sottoposte a stress idrico moderato risultano avere mediamente un peso di 17,16 g, non significativamente differente dal controllo e dallo stress idrico severo.

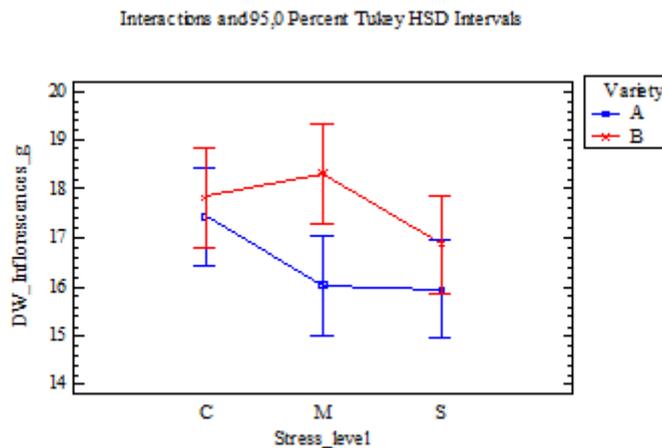


Figura 24 - Confronto delle medie dei pesi secchi in g delle infiorescenze delle piante del gruppo C (di controllo), M (stress idrico moderato) ed S (stress idrico severo) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin).

L'unica differenza significativa presente in Fig. 24 è tra i pesi secchi medi delle infiorescenze per lo stress moderato delle varietà A (17 g) e B (18,31 g). Ciò suggerisce che il livello di stress moderato possa essere il fattore discriminante tra le due varietà, con gli altri livelli di stress aventi medie molto più vicine e senza alcuna differenza significativa (per la varietà A, C = 17,44 g, S = 15,95 g). All'interno delle singole varietà, tra i diversi livelli di stress non emergono differenze significative, anche se nel caso della varietà B è da notare che sia il gruppo di piante soggette a stress moderato

ad avere la produzione di infiorescenze maggiore rispetto agli altri (17,84 g del controllo, 16,89 g severo).

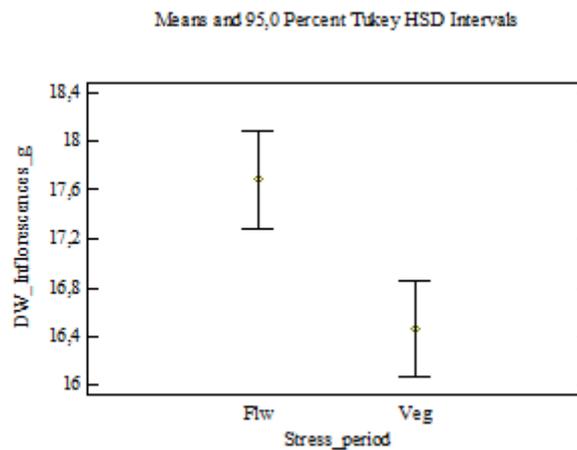


Figura 25 - Confronto delle medie dei pesi secchi in g delle infiorescenze delle piante del gruppo Flw (stress idrico durante la fioritura) e del gruppo Veg (stress idrico durante la fase vegetativa) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Dal grafico sovrastante (Fig. 25) si evince come le piante sottoposte a stress idrico in fase di fioritura abbiano un peso secco medio delle infiorescenze (17,68 g) significativamente maggiore di quello delle piante sottoposte a stress in fase vegetativa (16,47 g).

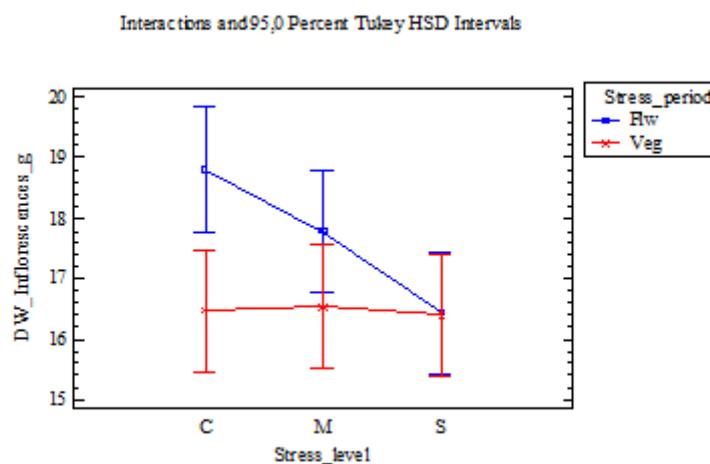


Figura 26 - Confronto delle medie dei pesi secchi in g delle infiorescenze delle piante del gruppo C (di controllo), M (stress idrico moderato) ed S (stress idrico severo) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per momento dello stress (Flw = stress in fioritura, Veg = stress in fase vegetativa).

In Fig. 26 emerge come i pesi secchi medi delle infiorescenze dei gruppi controllo tra un momento di stress e l'altro divergono significativamente, con il gruppo delle piante sottoposte a stress in

fioritura che presenta un valore molto maggiore (18,81 g) rispetto a quello con stress durante la fase vegetativa (16,47 g).

Non ci sono state differenze significative a livello di peso secco medio delle infiorescenze tra i gruppi controllo, stress moderato e severo delle piante soggette a stress durante la fase vegetativa. Invece, per quanto riguarda le piante soggette a stress durante la fioritura, si sono riscontrate differenze significative tra il gruppo controllo (18,81 g) e il gruppo stress idrico severo (16,44 g), con una tendenza quindi di diminuzione nella produzione di infiorescenze all'aumentare dell'intensità dello stress idrico.

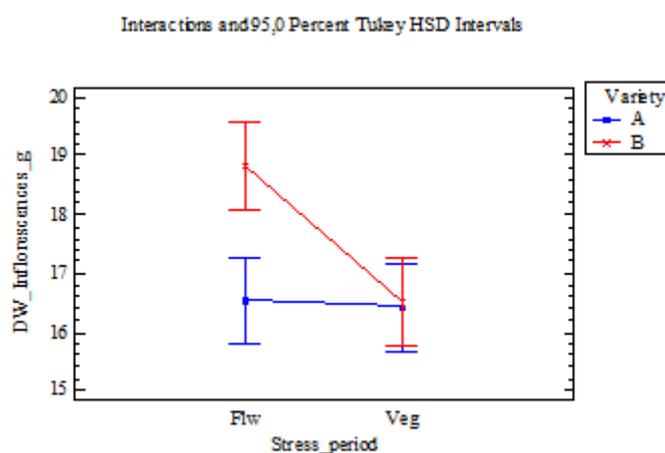


Figura 27 - Confronto delle medie dei pesi secchi in g delle infiorescenze delle piante del gruppo Flw (stress idrico durante la fioritura) e del gruppo Veg (stress idrico durante la fase vegetativa) con intervalli di confidenza al 95,0% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin).

Nella Fig. 27 sono due le differenze significative presenti: la prima è tra il peso secco medio delle infiorescenze in stress in fioritura tra le varietà A (16,53 g) e B (18,84 g), l'altra all'interno della varietà B tra piante in stress in fioritura e quelle in stress in fase vegetativa (16,52 g). Le tendenze da evidenziare sono quindi due: la prima è che la varietà A ha risentito maggiormente dello stress in fioritura rispetto alla B nella produzione di infiorescenze, la seconda è che mentre nella varietà B lo stress in fase vegetativa ha causato una riduzione di produzione di infiorescenze consistente rispetto a quello in fioritura, nella varietà A la produzione, rimasta costante, non è stata influenzata dal momento in cui ha subito lo stress (fase vegetativa = 16,42 g).

4.3 Harvest index

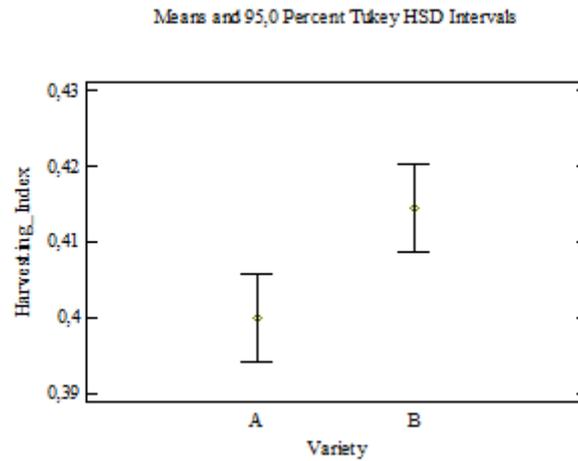


Figura 28 - Confronto tra l'harvest index delle piante della varietà A (Feno Moon) e della varietà B (Harlequin), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Le analisi eseguite e riportate in Fig. 28 hanno rilevato che le piante della varietà Harlequin, con *harvest index* medio di 0,414, presentano un valore significativamente maggiore rispetto a quelle della varietà Feno Moon, con *harvest index* medio di 0,400.

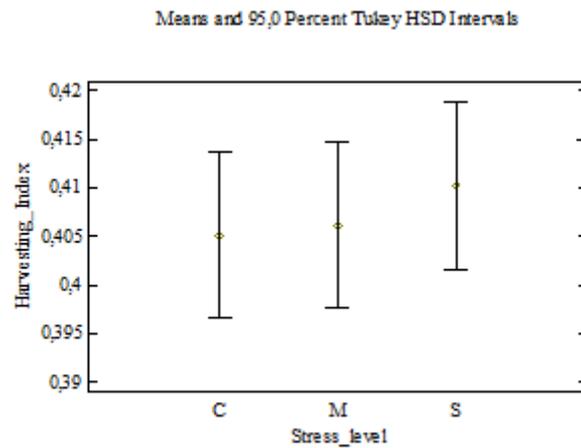


Figura 29 - Confronto dell'harvest index tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

A partire dalla Fig. 29 si può affermare che tra gli *harvest index* delle piante non sottoposte a stress idrico (valore medio di 0,405), quelle sottoposte a stress moderato (0,406) e quelle sottoposte a stress severo (0,41) non ci sono differenze significative.

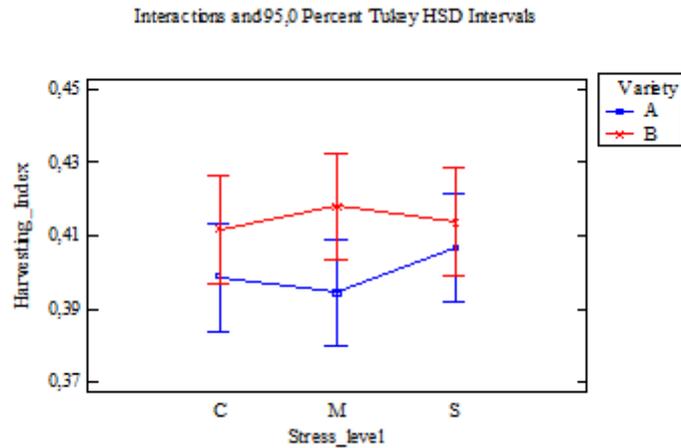


Figura 30 - Confronto dell'harvest index tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin).

Nonostante l'assenza di differenze significative, l'interazione tra varietà e diverse intensità di stress presente in Fig. 30 mostra che la varietà B ha avuto un *harvest index* maggiore della varietà A a qualsiasi livello di stress, risultato conforme con quello emerso in Fig. 28. Un'altra considerazione da fare è che la risposta delle varietà ai differenti livelli di stress è stata differente: nella varietà A nelle piante soggette a stress moderato (0,395) si ha avuto *harvest index* minore rispetto a controllo (0,399) e stress severo (0,401), nelle corrispondenti della varietà B si ha avuto invece un massimo (0,418 contro 0,412 del controllo e 0,414 dello stress severo), tenendo a mente però che in entrambi i casi si parla di fluttuazioni minime.

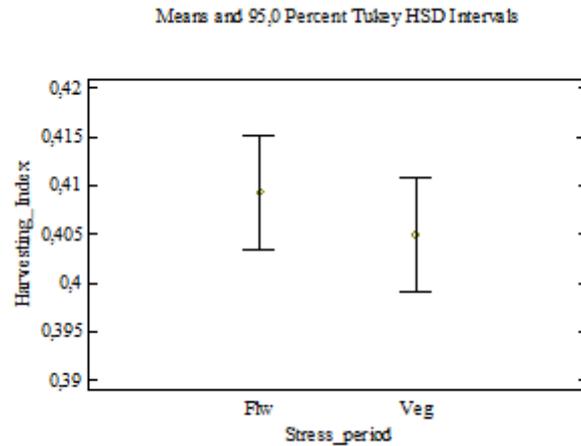


Figura 31 - Confronto tra l'harvest index delle piante in stress idrico in fioritura (Flw) e quello in stress durante la fase vegetativa (Veg), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Il grafico qui riportato (Fig. 31) rappresenta gli *harvest index* medi delle piante sottoposte a stress idrico in fioritura (0,409) e di quelle sottoposte a stress in fase vegetativa (0,405), evidenziando come non sussistano tra i due gruppi differenze significative.

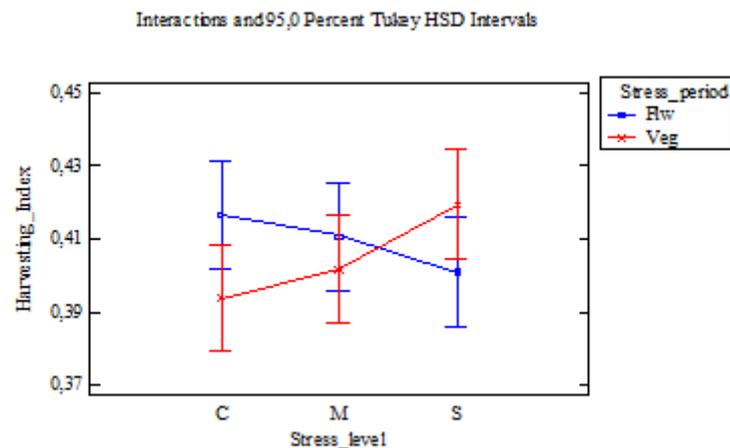


Figura 32 - Confronto dell'harvest index tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per momento dello stress (Flw = stress in fioritura, Veg = stress in fase vegetativa).

In Fig. 32 non emergono differenze significative a livello di *harvest index* nell'interazione tra piante soggette a stress idrico di intensità o in momenti differenti. Tuttavia, mentre le piante soggette a stress in fase vegetativa sembrano avere un *harvest index* crescente all'aumentare dello stress, le piante in stress in fioritura hanno andamento opposto.

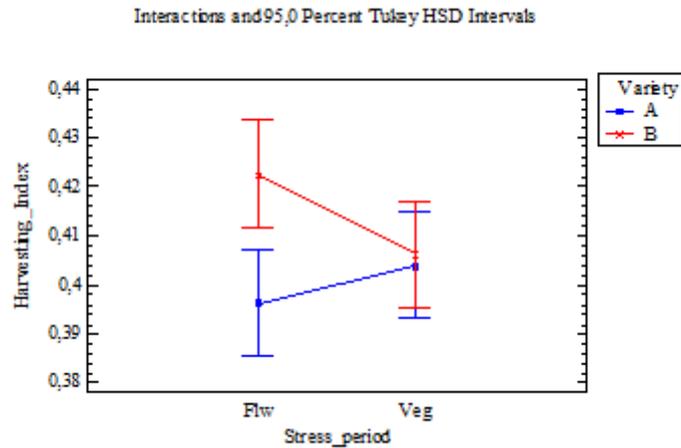


Figura 33 - Confronto tra l'harvest index delle piante in stress idrico in fioritura (Flw) e quello in stress durante la fase vegetativa (Veg), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin)

L'unica differenza significativa presente in Fig. 33 è tra l'harvest index delle varietà A (0,396) e B (0,423) con stress in fioritura. L'harvest index della varietà A risulta crescente tra le piante con stress in fioritura e quelle con stress in fase vegetativa (0,404), tendenza che sembra essere opposta nella varietà B (Veg = 0,406).

4.4 Cannabinoidi

4.4.1 Cannabidiolo

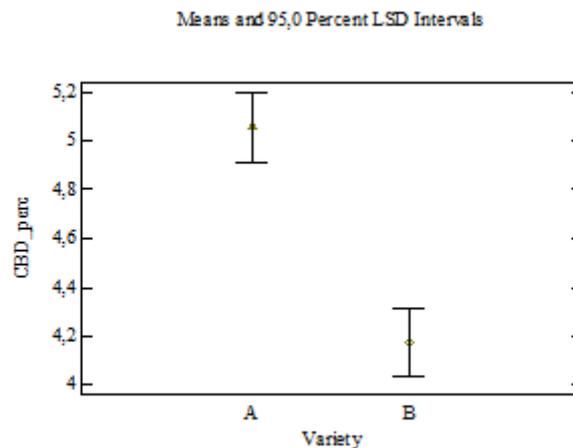


Figura 34 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in cannabidiolo (CBD) tra le varietà A (Fenomoon) e B (Harlequin), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Come si può vedere in Fig. 34, le analisi svolte indicano che le piante della varietà A hanno una media di contenuto del 5,05% di CBD nelle infiorescenze, significativamente più alta rispetto alla media di 4,17% della varietà B.

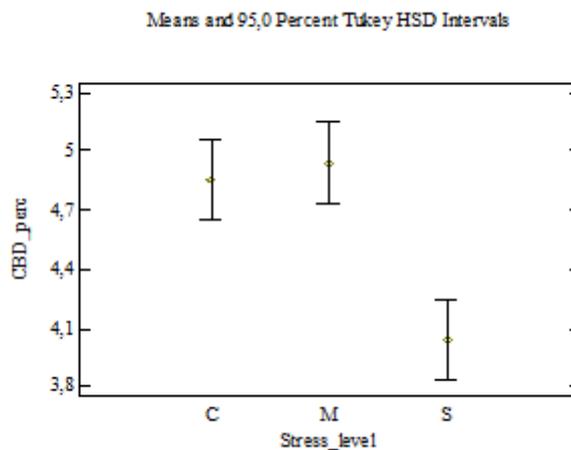


Figura 35 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in cannabidiolo (CBD) tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Dalla Fig. 35 si evince che le infiorescenze delle piante del controllo e quelle sottoposte a stress idrico moderato non presentano differenze significative nel contenuto in CBD (rispettivamente 4,86% e 4,94%), differenze che sono invece significative rispetto alle piante sottoposte a stress severo, che hanno infiorescenze con una quantità nettamente inferiore di questo composto (4,04%).

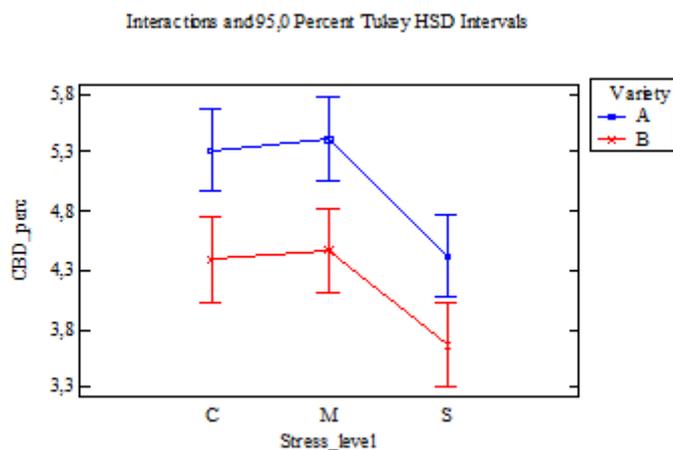


Figura 36 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in cannabidiolo (CBD) tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin)

Nella Fig. 36 la varietà A presenta un contenuto di CBD nelle infiorescenze significativamente maggiore della varietà B a tutti i livelli di stress, risultato che è concorde con quanto emerso in Fig. 34. In entrambe le varietà non ci sono differenze significative tra piante non in stress (varietà A = 5,32%, B = 4,39%) e piante in stress moderato (A = 5,42%, B = 4,47%), mentre il contenuto di CBD delle infiorescenze diminuisce significativamente nel caso di stress severo in tutte due (A = 4,42%, B = 3,66%), elemento di continuità con quanto indicato in Fig. 35.

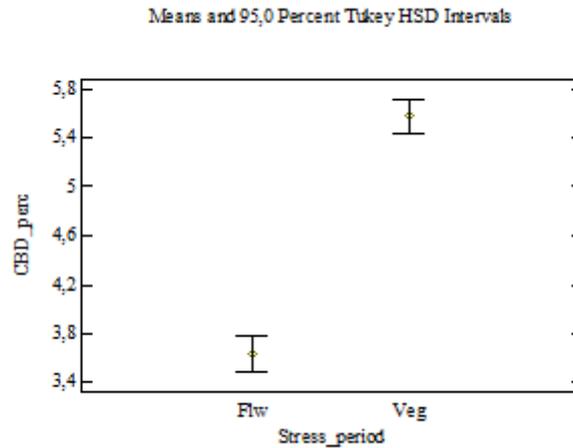


Figura 37 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in cannabidiolo (CBD) tra il gruppo in stress idrico in fioritura (Flw) e quello in stress durante la fase vegetativa (Veg), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Il grafico sovrastante (Fig. 37) mostra che il contenuto in CBD delle infiorescenze provenienti dalle piante che hanno subito lo stress idrico durante la fioritura è in media del 3,64%, significativamente più basso rispetto al 5,59% delle piante sottoposte a stress in fase vegetativa.

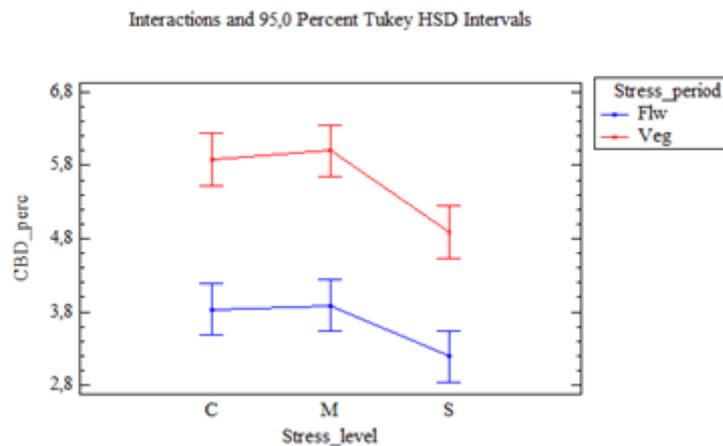


Figura 38 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in cannabidiolo (CBD) tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per momento dello stress (Flw = stress in fioritura, Veg = stress in fase vegetativa).

Dal grafico in Fig. 38 si evince che le piante soggette a stress durante la fioritura abbiano avuto una produzione di CBD nelle infiorescenze significativamente minore rispetto a quelle soggette a stress durante la fase vegetativa. Si può notare come le piante soggette a stress severo abbiano avuto, nel caso dello stress in fase vegetativa, produzione di CBD significativamente minore (media di 4,89 %), inferiore quindi a entrambi gli altri gruppi, controllo (5,88 %) e moderato (6,0 %); nel caso dello stress in fioritura invece una chiara tendenza di diminuzione anche se l'unica differenza

significativa ottenuta da questa interazione è tra lo stress severo e moderato, 3,19 % e 3,89 %, rispettivamente.

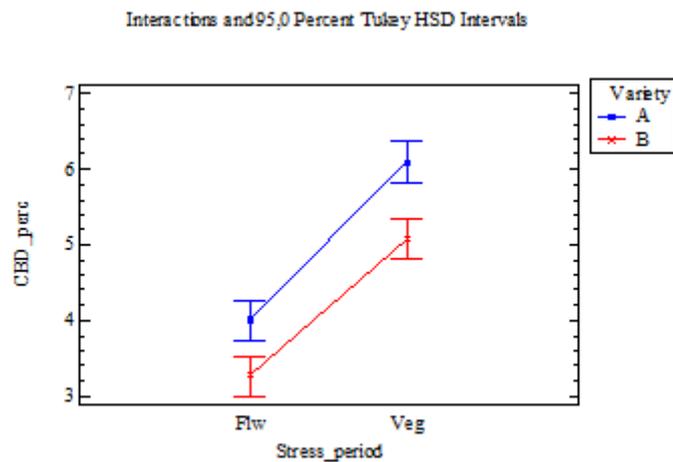


Figura 39 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in cannabidiolo (CBD) tra il gruppo in stress idrico in fioritura (Flw) e quello in stress durante la fase vegetativa (Veg), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin)

In Fig. 39 emerge che le infiorescenze della varietà A abbiano un contenuto significativamente maggiore in CBD rispetto alla varietà B a prescindere dal periodo di applicazione dello stress e che le piante con stress in fioritura (A = 4%, B = 3,27%) abbiano infiorescenze con un contenuto di CBD significativamente minore di quelle con stress in fase vegetativa (A = 6,1%, B = 5,08%) a prescindere dalla varietà presa in esame. Tali risultati sono concordi rispettivamente con quelli delle Fig. 34 e 37.

4.4.2 Cannabinolo

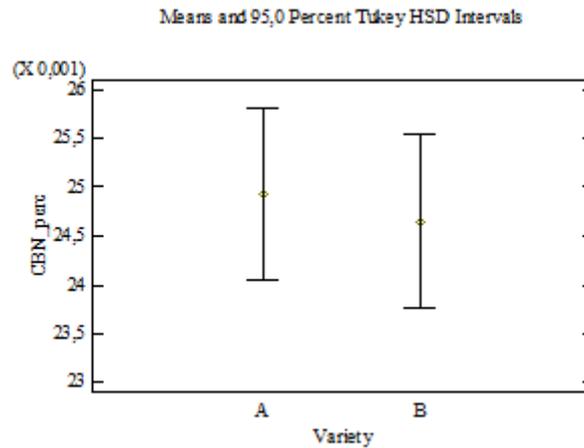


Figura 40 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in Cannabinolo (CBN) tra le varietà A (Fenomoon) e B (Harlequin), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Le analisi eseguite, i cui risultati sono riportati in Fig. 40, mostrano che le infiorescenze della varietà A presentano una percentuale media di contenuto di CBN dello 0,0249%, mentre quelle della varietà B di 0,02465%. Tra i due gruppi non vi è alcuna differenza significativa.

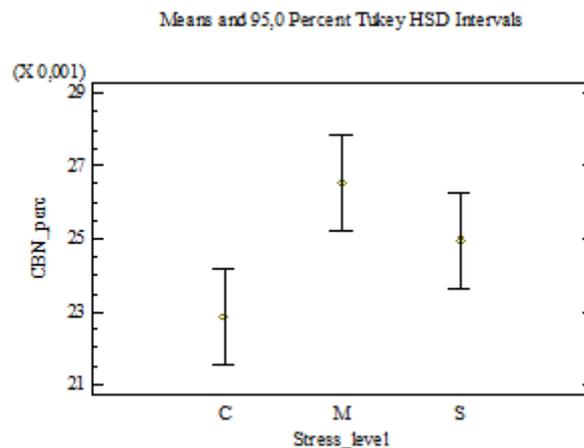


Figura 41 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in Cannabinolo (CBN) tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Osservando la Fig. 41 si può notare la presenza di una differenza significativa tra il contenuto in CBN delle infiorescenze delle piante del controllo (contenuto dello 0,0229%) e quello delle piante soggette a stress idrico moderato (0,0265%), mentre non ci sono differenze significative nei confronti di quelle sottoposte a stress severo (0,0250%). Lo stress sembra causare un aumento del contenuto di CBN nelle infiorescenze, anche se non in maniera direttamente proporzionale alla sua

severità, in quanto le infiorescenze delle piante soggette a stress moderato hanno contenuto maggiore in CBN rispetto a quelle soggette a stress severo.

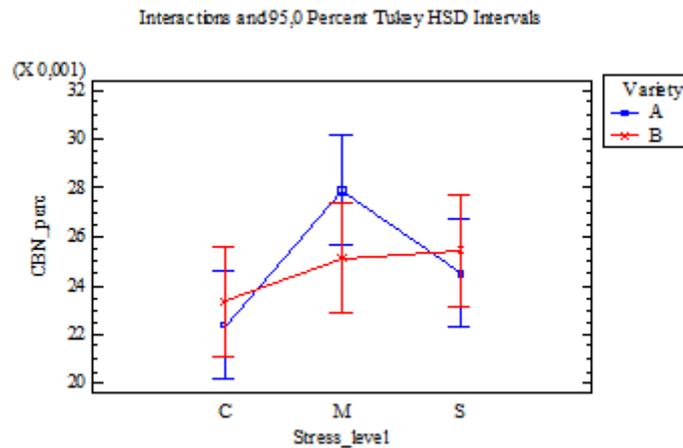


Figura 42 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in Cannabinolo (CBN) tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin).

Dalla Fig. 42 si evince che per quanto riguarda la varietà A il contenuto in CBN delle infiorescenze delle piante del controllo (0,0224%) è significativamente minore rispetto a quello delle piante in stress moderato (0,0279%). Inoltre, mentre per le piante della varietà B sembra che ci sia una tendenza di crescita del contenuto di CBN nelle infiorescenze all'aumentare dello stress (C = 0,0234%, M = 0,0252%, S = 0,0255%), lo stesso non vale per la varietà A, in cui le infiorescenze delle piante soggette a stress moderato presentano un contenuto in CBN maggiore anche delle piante soggette a stress severo (0,0245%).

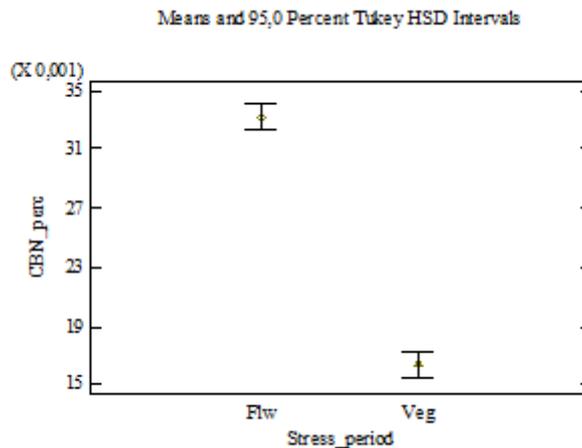


Figura 43 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in Cannabinolo (CBN) tra il gruppo in stress idrico in fioritura (Flw) e quello in stress durante la fase vegetativa (Veg), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

L'analisi dei campioni delle piante sottoposte a stress idrico in momenti diversi ha mostrato differenze significative in termini di contenuto di CBN nelle infiorescenze (Fig. 43), con una media delle piante sottoposte a stress durante la fioritura dello 0,0332% e dello 0,0164% per quanto riguarda le piante soggette a stress durante la fase vegetativa.

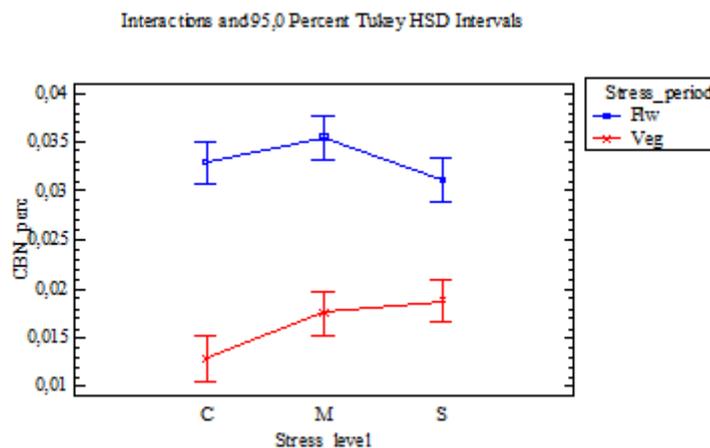


Figura 44 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in Cannabinolo (CBN) tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per momento dello stress (Flw = stress in fioritura, Veg = stress in fase vegetativa).

In Fig. 44 emerge chiaramente come le infiorescenze delle piante con stress in fioritura (C = 0,0329%, M = 0,0355%, S = 0,0312%) abbiano un contenuto in CBN significativamente maggiore di quelle con stress in fase vegetativa (C = 0,0129%, M = 0,0176%, S = 0,0188%) a prescindere dall'intensità dello stress, risultato concorde con quanto riportato per la Fig. 43. Le infiorescenze delle piante con stress in fase vegetativa mostrano un contenuto in CBN crescente col crescere dello stress, fatto evidenziato anche dalla differenza significativa tra contenuto in CBN delle piante del

gruppo di controllo e quelle con stress severo. Tale tendenza non emerge per quanto riguarda le piante con stress in fioritura, dove il contenuto di CBN nelle infiorescenze delle piante del controllo non differisce significativamente dalle piante sottoposte a stress moderato e severo.

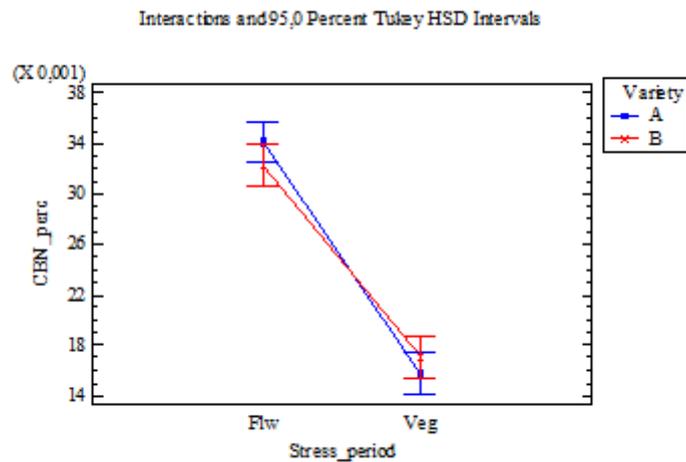


Figura 45 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in Cannabinolo (CBN) tra il gruppo in stress idrico in fioritura (Flw) e quello in stress durante la fase vegetativa (Veg), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin)

In Fig. 45 emerge come le infiorescenze delle piante con stress in fioritura (A = 0,0341%, B = 0,0323%) abbiano un contenuto in CBN significativamente maggiore rispetto a quelle con stress in fase vegetativa (A = 0,0158%, B = 0,017%) in entrambe le varietà, risultato concorde con quello di Fig. 43. Allo stesso tempo si può notare come mentre nel caso di stress in fioritura sia la varietà A ad accumulare una maggior quantità di CBN nelle infiorescenze, nel caso di stress in fase vegetativa sia la B a farlo.

4.4.3 Tetraidrocannabinolo

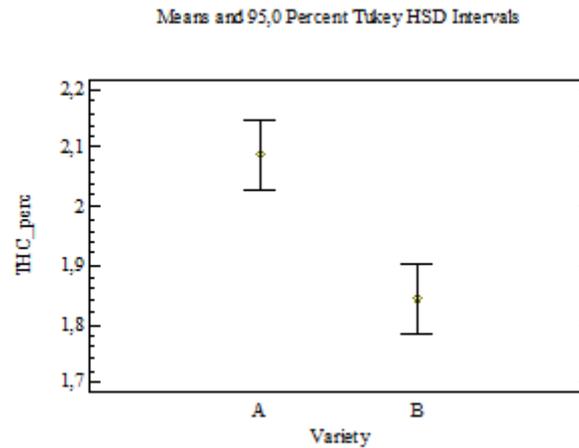


Figura 46 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in tetraidrocannabinolo (THC) tra le varietà A (Fenomoon) e B (Harlequin), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Le infiorescenze della varietà A, come si evince dalla Fig. 46, presentano un contenuto in THC significativamente maggiore di quelle della varietà B, con una media del 2,09% rispetto a una dell'1,84%.

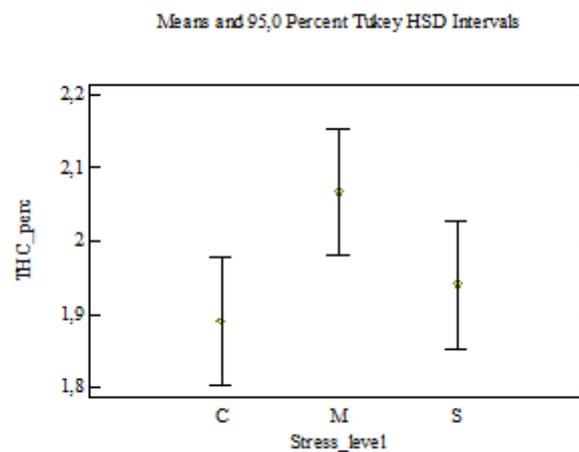


Figura 47 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in tetraidrocannabinolo (THC) tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

Dall'analisi ANOVA non risultano differenze statisticamente significative per i contenuti in percentuale di THC per i diversi livelli di stress idrico (Fig. 47). Tuttavia, si può osservare come vi sia una differenza marginale (p-value 0,052) tra le medie del controllo C (1,89%) e lo stress moderato M (2,07%).

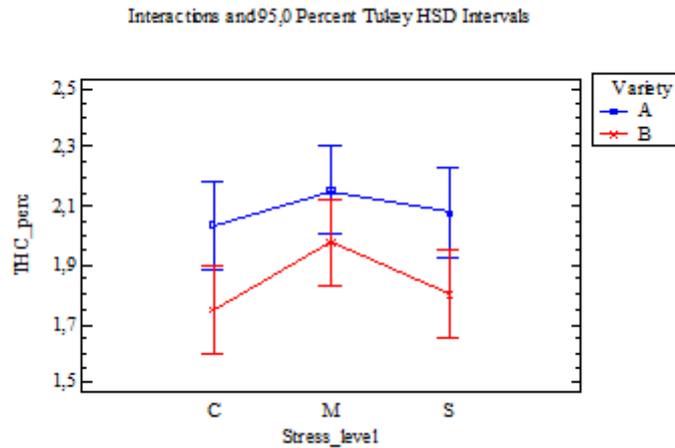


Figura 48 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in tetraidrocannabinolo (THC) tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin).

Seppure senza differenze significative, l'andamento del contenuto di THC delle infiorescenze in Fig. 48 è conforme a quanto evidenziato in Fig. 46, in quanto le infiorescenze della varietà A hanno un contenuto in THC (C = 2,18%, M = 2,30%, S = 2,22%) che sembra maggiore di quello della varietà B (C = 1,89%, M = 2,12%, S = 1,95%) in tutti i livelli di stress. Per quanto riguarda l'intensità dello stress, la tendenza che vede un aumento del contenuto in THC delle infiorescenze delle piante in stress moderato vista anche in Fig. 47 è presente in entrambe le varietà.

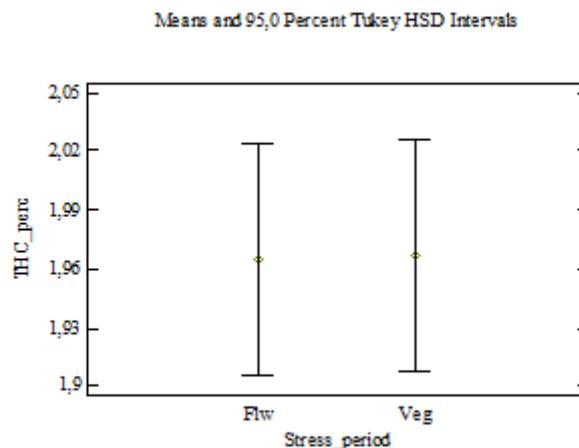


Figura 49 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in tetraidrocannabinolo (THC) tra il gruppo in stress idrico in fioritura (Flw) e quello in stress durante la fase vegetativa (Veg), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey

L'analisi dei campioni delle piante sottoposte a stress idrico in momenti diversi non ha mostrato differenze significative in termini di contenuto di THC nelle infiorescenze (Fig. 49), con una media coincidente dell'1,97% per entrambi i gruppi.

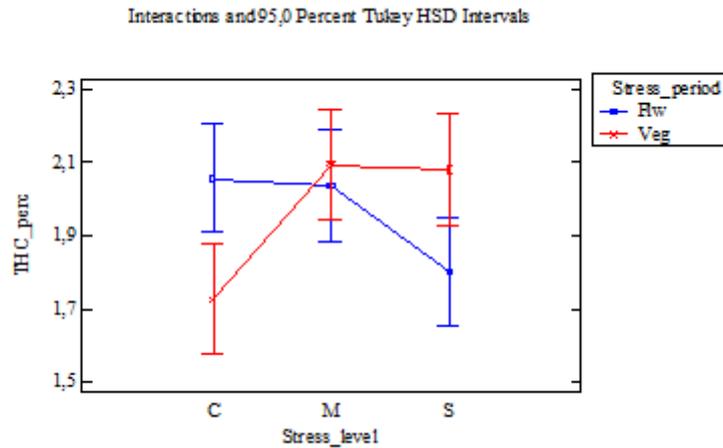


Figura 50 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in tetraidrocannabinolo (THC) tra il controllo (C), il trattamento in stress idrico moderato (M) e il trattamento in stress idrico severo (S), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per momento dello stress (Flw = stress in fioritura, Veg = stress in fase vegetativa)

In Fig. 50 emerge come il contenuto in THC delle infiorescenze delle piante del controllo con stress in fioritura (2,20%) sia significativamente maggiore di quello delle piante del controllo con stress in fase vegetativa (1,87%). Tale tendenza non è altrettanto chiara per quanto riguarda gli stress moderato e severo, dove invece prevale in maniera non significativa il contenuto in THC delle piante con stress in fase vegetativa, anche se nel caso dello stress severo la differenza è consistente (Flw = 1,95%, Veg = 2,22%). Un'altra considerazione da fare è che mentre per le piante con stress in fioritura sembra esserci un contenuto in THC nelle infiorescenze decrescente all'aumentare dello stress, con valori simili per le piante del controllo e quelle soggette a stress moderato, tale andamento non emerge in quelle con stress in fase vegetativa, dove al contrario il contenuto in THC in presenza di stress idrico sembra aumentare e i valori simili sono quelli tra piante soggette a stress moderato e severo.

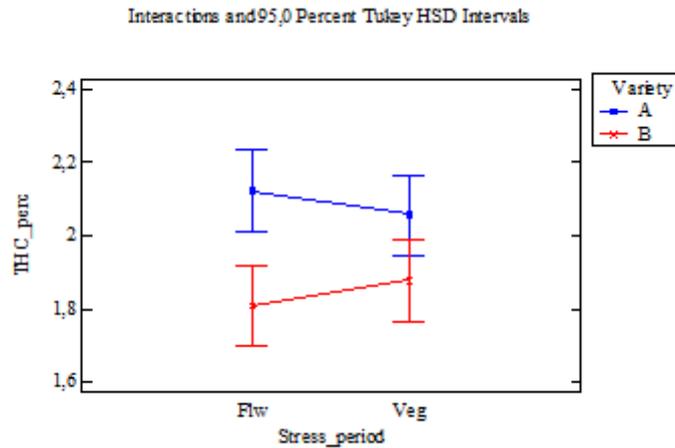


Figura 51 - Confronto tra le medie in percentuale del contenuto in tetraidrocannabinolo (THC) tra il gruppo in stress idrico in fioritura (Flw) e quello in stress durante la fase vegetativa (Veg), con intervalli di confidenza al 95% calcolati utilizzando il test HSD di Tukey suddivisi per varietà (A = Feno Moon, B = Harlequin).

In fig. 51 emerge come le infiorescenze della varietà A con stress in fioritura (2,24%) abbiano un contenuto in THC significativamente maggiore delle corrispondenti della varietà B (1,93%) e che tale comportamento sia presente chiaramente anche in quelle in fase vegetativa anche se in assenza di significatività (A = 2,17%, B = 2%). Inoltre, nella varietà A il contenuto in THC delle infiorescenze è maggiore per le piante con stress in fioritura, nella varietà B in quelle con stress in fase vegetativa. In entrambi i casi le differenze non sono significative.

5. Discussione

Dall'analisi condotta è emersa una notevole differenza tra le due varietà studiate.

Nella varietà A, l'aumento del livello di stress ha determinato una riduzione lineare della biomassa, con differenze significative tra le condizioni di controllo (C) e stress severo (S). Per la varietà B, nonostante non si siano riscontrate differenze significative per i diversi livelli di stress, è interessante notare come la differenza tra i valori di controllo e stress moderato sia trascurabile, mentre lo stress severo abbia indotto una riduzione del 6 % del peso della biomassa secca delle piante. Tale comportamento della varietà B riemerge in diversi altri momenti del presente studio: oltre che a livello di biomassa, anche per quanto riguarda l'*harvest index*, la produzione di infiorescenze e il loro contenuto in CBD e THC. Infatti, un livello di stress moderato sembra dare risultati simili o addirittura di poco maggiori rispetto al controllo, con unica eccezione il contenuto in CBN delle infiorescenze, che addirittura si dimostra crescente al crescere dell'intensità dello stress. Se ciò venisse confermato, significherebbe che nella varietà Harlequin di *Cannabis sativa L.* una condizione di stress moderato porterebbe non solo a un risparmio d'acqua, ma anche a una maggiore produzione di infiorescenze con un maggior contenuto di cannabinoidi al loro interno. Tale prospettiva è estremamente interessante soprattutto se si riuscissero ad avere delle varietà ad alto THC da impiegare nel settore della cannabis medica. In tal caso, il punto cruciale è proprio la gestione dello stress: dal presente studio infatti si evince che la risposta dei diversi aspetti produttivi considerati non è uniforme. Se da un lato infatti lo stress applicato durante la fioritura sembra causare un aumento di produzione di biomassa, di produzione di infiorescenze, dell'*harvest index* e del contenuto di CBN nelle infiorescenze rispetto a uno stress applicato in fase vegetativa, allo stesso tempo i livelli di CBD e THC aumentano nel caso di stress in fase vegetativa, per cui il coltivatore in base ai suoi scopi sarà posto davanti a delle scelte per stabilire la qualità del prodotto finale.

Se si considera invece la varietà A, il comportamento risulta meno uniforme: il gruppo di piante sottoposte a stress moderato presenta i contenuti più elevati di CBD, CBN e THC nelle infiorescenze, mentre è il gruppo di controllo a produrre una quantità maggiore di biomassa e di infiorescenze; l'*harvest index* massimo si ha infine in corrispondenza dello stress severo. Anche qui la scelta del periodo di stress è fondamentale: biomassa e infiorescenze prodotte non sembrano risentire particolarmente della scelta del periodo di stress, *harvest index* e contenuto in CBD delle infiorescenze risultano maggiori (come tendenza il primo e come differenza significativa il secondo) se lo stress avviene in fase vegetativa, mentre i contenuti in CBN e THC nelle infiorescenze risultano maggiori se lo stress avviene durante la fioritura.

6. Conclusioni

Cannabis sativa L. negli ultimi anni è andata incontro a una riscoperta e a un crescente entusiasmo della comunità scientifica grazie alla sua capacità di fornire molti prodotti dagli usi più disparati (fibre, olii, infiorescenze...). Il proibizionismo cui è stata soggetta nell'ultimo secolo ha causato un enorme rallentamento nella sua conoscenza e ciò si riflette nella mancanza di un consenso riguardante, tra gli altri, molti aspetti della sua coltivazione, non ultimo il suo rapporto con l'acqua e gli effetti di tale rapporto sul processo produttivo.

Dal presente lavoro emerge chiaramente come il comportamento di *Cannabis sativa* L. in risposta allo stress idrico presenti prospettive incoraggianti: i risultati ottenuti, se confermati da ulteriori studi ed allargati ad ulteriori varietà, evidenziano come sia possibile ridurre l'apporto di acqua significativamente (nel caso qui esposto del 40%) mantenendo inalterata o addirittura migliorando la produzione in termini sia quantitativi che qualitativi. Tale caratteristica risulterebbe estremamente importante soprattutto nell'ambito della cannabis medicinale, dove rese in termini di infiorescenze e cannabinoidi da esse contenuti rappresentano la richiesta principale.

7. Bibliografia

- Adesina I, Bhowmik A, Sharma H, Shahbazi A. A Review on the Current State of Knowledge of Growing Conditions, Agronomic Soil Health Practices and Utilities of Hemp in the United States. *Agriculture*. 2020; 10(4):129. <https://doi.org/10.3390/agriculture10040129>
- Ahrens A, Llewellyn D, Zheng Y. Is Twelve Hours Really the Optimum Photoperiod for Promoting Flowering in Indoor-Grown Cultivars of *Cannabis sativa*? *Plants*. 2023; 12(14):2605. <https://doi.org/10.3390/plants12142605>
- Amaducci, S., Scordia, D., Liu, F. H., Zhang, Q., Guo, H., Testa, G., & Cosentino, S. L. (2015). Key cultivation techniques for hemp in Europe and China. *Industrial Crops and Products*, 68, 2-16.
- Barcaccia, G., Palumbo, F., Scariolo, F., Vannozzi, A., Borin, M., & Bona, S. (2020). Potentials and challenges of genomics for breeding cannabis cultivars. *Frontiers in plant science*, 11, 573299.
- Blandinières, H., & Amaducci, S. (2022). Agronomy and ecophysiology of hemp cultivation. In *Cannabis/hemp for sustainable agriculture and materials* (pp. 89-125). Singapore: Springer Singapore.
- Carlson, C. H., Stack, G. M., Jiang, Y., Taşkıran, B., Cala, A. R., Toth, J. A., ... & Smart, L. B. (2021). Morphometric relationships and their contribution to biomass and cannabinoid yield in hybrids of hemp (*Cannabis sativa*). *Journal of Experimental Botany*, 72(22), 7694-7709.
- Duong, H., Pearson, B., Anderson, S., Berthold, E., & Kjelgren, R. (2023). Variation in Hydric Response of Two Industrial Hemp Varieties (*Cannabis sativa*) to Induced Water Stress. *Horticulturae*, 9(4), 431.
- Ferraiolo, K. (2007). From killer weed to popular medicine: The evolution of American drug control policy, 1937–2000. *Journal of Policy History*, 19(2), 147-179.

- Hourfane, S., Mechqoq, H., Bekkali, A. Y., Rocha, J. M., & El Aouad, N. (2023). A comprehensive review on *Cannabis sativa* ethnobotany, phytochemistry, molecular docking and biological activities. *Plants*, *12*(6), 1245.
- Jin, D., Jin, S., & Chen, J. (2019). Cannabis indoor growing conditions, management practices, and post-harvest treatment: a review. *American Journal of Plant Sciences*, *10*(06), 925.
- Kovalchuk, I., Pellino, M., Rigault, P., Van Velzen, R., Ebersbach, J., Ashnest, J. R., ... & Sharbel, T. F. (2020). The genomics of *Cannabis* and its close relatives. *Annual Review of Plant Biology*, *71*(1), 713-739.
- Kuddus, M., Ginawi, I. A., & Al-Hazimi, A. (2013). *Cannabis sativa*: An ancient wild edible plant of India. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, *25*(10), 736-745.
- Malík, M., Velechovský, J., & Tlustoš, P. (2021). The overview of existing knowledge on medical cannabis plants growing. *Plant, Soil and Environment*, *67*(8), 425-442.
- McPartland, J. M., Hegman, W., & Long, T. (2019). Cannabis in Asia: its center of origin and early cultivation, based on a synthesis of subfossil pollen and archaeobotanical studies. *Vegetation history and archaeobotany*, *28*, 691-702.
- Naim-Feil, E., Elkins, A. C., Malmberg, M. M., Ram, D., Tran, J., Spangenberg, G. C., ... & Cogan, N. O. (2023). The Cannabis Plant as a Complex System: interrelationships between cannabinoid compositions, morphological, physiological and phenological traits. *Plants*, *12*(3), 493.
- Peterswald, T. J., Mieog, J. C., Azman Halimi, R., Magner, N. J., Trebilco, A., Kretzschmar, T., & Purdy, S. J. (2023). Moving away from 12: 12; the effect of different photoperiods on biomass yield and cannabinoids in medicinal cannabis. *Plants*, *12*(5), 1061.
- Petit, J., Salentijn, E. M., Paulo, M. J., Thouminot, C., van Dinter, B. J., Magagnini, G., ... & Trindade, L. M. (2020). Genetic variability of morphological, flowering, and biomass quality traits in hemp (*Cannabis sativa* L.). *Frontiers in plant science*, *11*, 102.

- Rodziewicz, P., & Kayser, O. (2020). *Cannabis sativa* L.–*Cannabis*. *Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants*, 233-264.
- Rull, V. (2022). Origin, early expansion, domestication and anthropogenic diffusion of *Cannabis*, with emphasis on Europe and the Iberian Peninsula. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 55, 125670.
- Small, E. (2017). Classification of *Cannabis sativa* L. in relation to agricultural, biotechnological, medical and recreational utilization. *Cannabis sativa L.-Botany and biotechnology*, 1-62.
- Small, E. (2015). Evolution and classification of *Cannabis sativa* (marijuana, hemp) in relation to human utilization. *The botanical review*, 81, 189-294.
- Steel, L., Welling, M., Ristevski, N., Johnson, K., & Gendall, A. (2023). Comparative genomics of flowering behavior in *Cannabis sativa*. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1227898.
- Trancoso, I., de Souza, G. A., dos Santos, P. R., dos Santos, K. D., de Miranda, R. M. D. S. N., da Silva, A. L. P. M., ... & Campostrini, E. (2022). *Cannabis sativa* L.: Crop management and abiotic factors that affect phytocannabinoid production. *Agronomy*, 12(7), 1492.
- Sunoj Valiarambil Sebastian, J., Dong, X., Trostle, C., Pham, H., Joshi, M. V., Jessup, R. W., ... & Provin, T. L. (2023). Hemp agronomy: Current advances, questions, challenges, and opportunities. *Agronomy*, 13(2), 475.
- Vernon, M., Kouzani, A. Z., Webb, L. D., & Adams, S. D. (2023). A Survey of Modern Greenhouse Technologies and Practices for Commercial *Cannabis* Cultivation. *IEEE Access*, 11, 62077-62090.
- Visković, J., Zheljazkov, V. D., Sikora, V., Noller, J., Latković, D., Ocamb, C. M., & Koren, A. (2023). Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) agronomy and utilization: A review. *Agronomy*, 13(3), 931.
- Zhang, Q., Chen, X., Guo, H., Trindade, L. M., Salentijn, E. M., Guo, R., ... & Yang, M. (2018). Latitudinal adaptation and genetic insights into the origins of *Cannabis sativa* L. *Frontiers in plant science*, 9, 1876.