

بررسی تغییرات فیتوشیمیایی عصاره گیاه دارویی *Cannabis sativa* L. در مرحله رشد رویشی تحت تاثیر تنش شوری

عطاله ربانی^۱، محمدرضا اردکانی^۲، حسنعلی نقدی بادی^{۳*}، شمسعلی رضازاده^۴، منصور سراجوقی^۵
^۱ دانشجوی دکتری، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
^۲ استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران
^۳ دانشیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران
^۴ استادیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران
^۵ استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۹/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۲/۹

چکیده

تنش‌های محیطی از جمله شوری بر میزان و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی تاثیر زیادی دارند. در این تحقیق به منظور بررسی تاثیر شوری بر خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه دارویی شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار شوری (۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی زیمنس بر متر) و در سه تکرار در پژوهشکده گیاهان دارویی کرج در سال ۱۳۹۸ به اجرا در آمد. میزان عناصر پتاسیم و سدیم با دستگاه دستگاه فلیم‌فومتر و کلر به روش رنگ‌سنجی در اندام‌های برگ و ریشه گیاه و همچنین میزان ترکیبات کاناบินوئیدی برگ گیاه شامل تتراهیدروکانابینول (THC^۱)، کانابیدول (CBD^۲) و کاناپیکرومن (CBC^۳) با دستگاه GC/MS مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بین تیمارهای مختلف شوری از نظر میزان سدیم، پتاسیم، کلر و کانابینوئیدهای THC، CBD و CBC وجود داشت. با افزایش سطح شوری، میزان یون‌های سدیم و کلر در برگ و ریشه نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت و بیشترین مقدار سدیم برگ و ریشه (به ترتیب ۱۵/۸۱، ۱۴/۰۶ میلی‌گرم در گرم) در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد. همچنین افزایش غلظت شوری سبب کاهش پتاسیم برگ و ریشه گیاه شد و بیشترین میزان پتاسیم برگ و ریشه (به ترتیب ۳۴/۸۳، ۳۴/۴۶ میلی‌گرم در گرم) مربوط به تیمار شاهد بود. بیشترین میزان THC و CBD (به ترتیب ۷/۹۴ و ۱/۴۵ میلی‌گرم بر گرم گیاه خشک) در غلظت شوری ۴ دیسی زیمنس بر متر و بیشترین میزان CBC در شوری ۲ دیسی زیمنس بر متر (۰/۱۲ میلی‌گرم بر گرم برگ خشک) به دست آمد. بنابراین شوری سبب تغییر میزان کانابینوئیدهای گیاه شاهدانه شده و بیشترین میزان THC، CBD و CBC در سطوح پایین شوری حاصل شده است.

واژه‌های کلیدی: تتراهیدروکانابینول، تنش شوری، شاهدانه، کانابیدول، کاناپیکرومن، محتوای عناصر

۱. Δ^9 -tetrahydrocannabinol
۲. Cannabidiol
۳. Cannabichromene

* نویسنده مسئول: naghdi@imp.ac.ir

میگرن و روماتیسم و بهبود نسبی علائم ایدز موثر می‌باشند (Asadi et al., 2019).

شرایط محیط رشد گیاهان دارویی بر میزان و کیفیت متابولیت‌های ثانویه آنها تاثیر زیادی دارند و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و مسیرهای متابولیکی متناظر با آنها به شدت با شرایط رشد گیاهان ارتباط دارد (Behdad et al., 2020). شوری یکی از عوامل محیطی است که با تاثیر بر روی بیشتر فعالیت‌های مرفوفیزیولوژیکی، رشد و نمو گیاه را تغییر می‌دهد (Iraji Mareshk and Moghaddam, 2021). شوری با تاثیر بر روی جذب عناصر مختلف نظیر فسفر، پتاسیم و نیترات سبب کاهش رشد گیاه می‌شود. مسمومیت یونی و کمبود مواد معدنی که در شوری رخ می‌دهد سبب به هم خوردن توازن متابولیکی و در پی آن تنش می‌شوند (Aghdasi et al., 2019). شوری جذب عناصر غذایی را با اختلال مواجه می‌کند و رقابت یون سدیم با یون‌هایی مثل پتاسیم و کلسیم منجر به کمبود عناصر غذایی می‌شود (Said-Al Ahl and Omer, 2011).

شوری با کاهش محتوای آب گیاه، بطور غیرمستقیم روی رشد گیاه تاثیر می‌گذارد. با افزایش شوری و یا با افزایش نمک در محلول خاک، پتانسیل اسمزی خاک کاهش یافته و تنش کم آبی ایجاد می‌شود. این مسأله سبب اختلال در جذب آب لازم برای رشد گیاه شده و در نتیجه سرعت رشد گیاه کاهش می‌یابد و موجب تغییر در فرآیندهای متابولیک گیاه می‌شود (Munnas and Tester, 2008). همچنین با افزایش سدیم، کاتیون‌های دیگر در گیاه کاهش می‌یابند و سبب برهم خوردن تعادل کاتیونی گیاه شده و موجب کاهش میزان کلسیم، پتاسیم و منیزیم در گیاه می‌شود (Yan-de et al., 2007). در سطوح بالای شوری، مقدار یون پتاسیم به علت جایگزینی توسط یون سدیم کاهش یافته و این مسأله سبب اختلال در

شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) گیاهی یکساله و علفی از خانواده Cannabaceae است که عموماً دوپایه می‌باشد و گل‌های نر و ماده آن بر روی پایه‌های جداگانه قرار دارند. عموماً گل‌های نر شاهدانه زودتر از گل‌های ماده آن تشکیل می‌شوند (Flores - Sanchez and Verpoorte, 2008). این گیاه در غالب مناطق گرم و معتدل کشت می‌شود و منشاء اولیه این گیاه در نقاط مرکزی آسیا بوده است (Asadi et al., 2019) که امروزه انواع خودرو آن در این مناطق رشد می‌کنند. ایران، افغانستان، بخشی از جنوب قزاقستان و حتی سیبری موطن اصلی شاهدانه می‌باشد (Iran-nejad et al., 2007). ایران یکی از رویشگاه‌های مهم این گیاه می‌باشد و نمونه‌های خودرو و زراعی آن در مناطق مختلف ایران یافت می‌شوند و به همین سبب تنوع ژنتیکی گسترده‌ای از این گیاه در ایران وجود دارد (Saadati et al., 2013). کانابینوئیدها ترکیبات فیتوشیمیایی هستند که تنها در جنس شاهدانه شناسایی شده‌اند (Yoshimatsu and Kitazawa, 2004) و (دلتا-THC) ۹ تراهایدروکانابینول، و CBD (کانابیندیول)، از مهم‌ترین ترکیبات کانابینوئیدی می‌باشند. مقدار THC در بخش‌های مختلف گیاه متفاوت بوده و در سرشاخه‌های گل دار گیاه در بالاترین حد است (Asadi et al., 2021).

امروزه به سبب اثرات درمانی ترکیبات موثره گیاه شاهدانه، فرآورده‌های دارویی متعددی از این گیاه در دنیا وجود دارد. تاکنون اثرات درمانی متعددی مانند تسکین انواع دردهای مزمن و غیر مزمن و درمان تشنج، التهاب، اضطراب و تهوع از کانابیدیول گزارش شده است. همچنین مطالعات اخیر نشان داده‌است که ترکیبات موثره این گیاه در درمان سرطان سینه و سایر سرطان‌ها و تعدیل علائم اسکیزوفرنی و ام. اس،

اراضی شور در ایران و دنیا، در این مطالعه ویژگی‌های فیتوشیمیایی گیاه شاهدانه در سطوح متفاوت شوری در مرحله رویشی مورد ارزیابی قرار گرفته‌است.

مواد و روش‌ها

در راستای بررسی تاثیر شوری بر ویژگی‌های فیتوشیمیایی در اندام‌های مختلف گیاه دارویی شاهدانه، مطالعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار شوری (۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر) و در سه تکرار در پژوهشکده گیاهان دارویی کرج واقع در هلجد کرج (عرض جغرافیایی ۳۵ درجه، ۵۴ دقیقه و ۱۷ ثانیه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه، ۵۳ دقیقه و ۷ ثانیه و ارتفاع ۱۶۶۱ متر از سطح دریا) در بهار سال ۱۳۹۸ به اجرا در آمد. هر واحد آزمایشی شامل ۳ گلدان بوده و بذور در داخل گلدان‌ها کشت گردید. گلدان‌ها با مخلوطی از خاک مزرعه، خاک‌برگ، کود حیوانی و ماسه پر شده‌بودند. برای اعمال سطوح مختلف شوری، گلدان‌ها با آب محتوی سطوح مربوطه شوری آبیاری گردیدند. واحدهای آزمایشی (گلدان‌ها) در داخل گلخانه در شرایط کنترل‌شده نگهداری شدند. تیمار شور در گیاه از مرحله چهار برگی با توجه به نیاز گیاه هر ۳ روز یکبار تا مرحله هشت برگی انجام گردید. در طول آزمایش پس از هر بار آبیاری، EC و pH زه آب اندازه‌گیری و ثبت گردید. در پایان میزان عناصر سدیم، کلر و پتاسیم در اندام‌های مختلف گیاه و همچنین میزان آلکالوئیدهای THC، CBD و CBC اندازه‌گیری گردیدند.

اندازه‌گیری پتاسیم و سدیم: برگ‌های گیاه در مرحله هشت برگی بعد از برداشت در هوای آزاد کاملاً خشک شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از هاون پودر شدند. ۰/۳ از نمونه‌های پودر شده را توزین کرده و به مدت ۶ ساعت در کوره با دمای ۵۰۰ درجه

تعادل یونی و سپس اختلال در متابولیسم سلولی می‌شود. زیرا پتاسیم در گیاه وظایف مهمی مانند باز و بسته شدن روزنه‌ها، فعال کردن آنزیم‌های فتوسنتزی و تنظیم اسمزی دارد. برخی از این وظایف به علت نقش پتاسیم در پتانسیل اسمزی سلول‌های محافظ و تغییر تورژسانس آن‌ها است (Hassibi et al., 2010).

در تحقیقی نشان داده شد که با افزایش سطوح شوری، میزان سدیم و کلر هم در ریشه و هم در ساقه بابونه بطور معنی‌داری افزایش یافته است ولی غلظت این عناصر در اندام هوایی بیشتر از ریشه بوده است (Baghalian et al., 2008). بررسی اثر شوری روی گیاه دارویی زنیان در یک آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که با افزایش سطح شوری، وزن تر و خشک‌ریشه و ساقه، میزان کلسیم و پتاسیم بطور معنی‌داری کاهش و میزان سدیم در اندام هوایی و ریشه بطور معنی‌داری افزایش یافته‌است (Ashraf et al., 2004). به‌رحال در شرایط شور، عموماً رشد گیاه کاهش می‌یابد که دلایلی متعددی دارد اما این کاهش رشد گیاه بیشتر ناشی از غلظت بالای یون سدیم، کلر و همچنین کمبود یون پتاسیم است (Zhang et al., 2010). مطالعات مختلفی در رابطه با تاثیر تنش شوری بر روی گیاهان مختلف و از جمله گیاهان خانواده *Lycopersicon*, *Hyoscyamus*, *Physalis*, *Datura* انجام شده است (Claussen, 2005; Bojović et al., 2010; Ali et al., 2011; Yildirim et al., 2011; Abdel Rahman et al., 2013; Gupta and Huang, 2014) نتایج نشان داده که میزان آلکالوئیدها در شرایط شوری افزایش یافته است.

به هر حال، گیاه دارویی شاهدانه به سبب داشتن ترکیبات کانابینوئیدی بسیار ارزشمند در صنایع دارویی، اهمیت زیادی در صنعت داروسازی دارد و تاکنون تاثیر شوری بر روی این گیاه دارویی و متابولیت‌های دارویی آن ارزیابی نشده است. با توجه به اهمیت دارویی شاهدانه و همچنین افزایش گستره

ستون: با طول ۱۵ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرون؛ فاز: ۵٪ دی فنیل - ۹۵٪ دی متیل پلی سیلوکسان؛ گاز: هیدروژن به عنوان گاز حامل، با سرعت جریان ۱،۱ میلی لیتر در دقیقه؛ دمای اتافک تزریق: ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد؛ نسبت تقسیم: به صورت split ۱ به ۲۰؛ برنامه دمایی: دمای اولیه آن ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ۲ دقیقه توقف در این دما، افزایش دما به میزان ۱۰ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و ۲ دقیقه توقف در این دما؛ آشکارساز: MS 300 C، H؛ ۳۵ میلی لیتر در دقیقه، هوا ۳۵۰ میلی لیتر در دقیقه استاندارد داخلی: تربینزیل آمین (TBA) در اتانول (۰،۵) میلی گرم در میلی لیتر؛ مقدار تزریق نمونه: ۱،۵ میکرولیتر، به صورت Split بود.

نتایج

میزان سدیم برگ و ریشه: نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری در بین تیمارها شوری از نظر میزان سدیم برگ و ریشه در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۱) و افزایش غلظت شوری سبب افزایش سدیم برگ و ریشه گیاه شد. بیشترین مقدار سدیم برگ (۱۵/۸۱ میلی گرم در گرم) در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر و کمترین مقدار آن (۲/۲۶ میلی گرم در گرم) در تیمار شاهد گزارش شد. همچنین بیشترین مقدار سدیم ریشه (۱۴/۰۶ میلی گرم در گرم) در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۲/۲۱ میلی گرم در گرم) گزارش شد (شکل ۱).

میزان پتاسیم برگ و ریشه: بین تیمارهای شوری از نظر میزان پتاسیم برگ و ریشه تفاوت معنی داری ($P \leq 0.01$) وجود داشت (جدول ۱). با افزایش سطح شوری، مقدار پتاسیم برگ و ریشه گیاه کاهش یافت. بیشترین مقدار پتاسیم برگ (۳۴/۸۳ میلی گرم در گرم)

سانتی‌گراد خاکستر شدند و سپس در ۵ میلی لیتر از اسید نیتریک ۲ مولار حل شدند. سپس حجم این محلول با آب مقطر دو بار تقطیر شده به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد و با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. سپس با دستگاه فلیم‌فوتومتری (مدل PFP7 ساخت کمپانی JENWAY انگلستان) اندازه‌گیری شد (Chapman and Pratt, 1961).

اندازه‌گیری کلر: برای اندازه‌گیری میزان کلر، ۱۰۰ میلی گرم از بافت پودر شده گیاه درون لوله فالکن ریخته شد و به آن ۱۰ میلی لیتر نیتریک اسید ۰/۵ مولار اضافه گردید و به مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و سپس عصاره‌گیری انجام شد. مقدار یک میلی لیتر از عصاره برای قرائت کلر طبق روش رنگ سنجی در طول موج ۴۸۰ نانومتر توسط دستگاه اپوچ استفاده شد (Munns and Tester, 2008).

استخراج ترکیبات کانابینوئیدی: برای استخراج کانابینوئیدها، ۲۵ گرم گیاه شاهدانه در ۵۰۰ میلی لیتر n-hexane به مدت ۱۰ روز خیسانده شد و سپس تحت امواج اولتراسونیک قرار گرفت. سپس برای آنالیز بعدی حلال آن تبخیر شد. برای آماده‌سازی نمونه جهت فرآیند کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی (GC-MS)، ۵۰۰ میکرولیتر محلول به داخل ویال کروماتوگرافی ۲ میلی لیتری منتقل شد. ویال را در حمام داغ (۱۵۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۲ دقیقه حرارت داد تا حلال تبخیر و دکربوکسیل شد. پس از آن باقیمانده در ۱،۵ میلی لیتر اتانول حل شده و تکان داده شد (Tayyab and Shahwar, 2015).

شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) متصل به طیف‌سنج جرمی (MS) انجام شد که مشخصات آن بشرح ذیل بود:

بررسی تغییرات فیتوشیمیایی عصاره گیاه دارویی.....

در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن (۲۰/۳۳ میلی گرم در گرم) در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر گزارش شد. همچنین بیشترین مقدار پتاسیم ریشه جدول ۱: تجزیه واریانس خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه شاهدانه

میانگین مربعات				درجه آزادی		منابع تغییرات
کلر ریشه	کلر برگ	پتاسیم ریشه	پتاسیم برگ	سدیم ریشه	سدیم برگ	
۵/۰۱ ^{ns}	۴/۰۶ ^{ns}	۱/۱۸ ^{ns}	۲/۶ ^{ns}	۱/۱۴ ^{ns}	۰/۸۴ ^{ns}	تکرار ۲
۲۵۸۶ ^{**}	۱۵۴۹ ^{**}	۱۶/۹ ^{**}	۱۲۱/۹ ^{**}	۷۰/۹ ^{**}	۱۰۱ ^{**}	شوری ۴
۲۳/۱۹	۹/۰۶	۱/۲۱	۴/۰۱	۰/۶۳	۰/۶۵	خطا ۸
ضرب تغییرات				۱۲/۱	۱۱/۸	

** معنی دار در سطح ۱٪، * معنی دار در سطح ۵٪، ns: غیر معنی دار.

جدول ۲: تجزیه واریانس خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه شاهدانه

میانگین مربعات			درجه آزادی	منابع تغییرات
CBC	CBD	THC		
۰/۰۰۰۰۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۶ ^{ns}	۰/۲۶ ^{ns}	۲	تکرار
۰/۰۰۰۰۰۱۴ ^{**}	۰/۲۸۵ ^{**}	۷/۰۸ ^{**}	۴	شوری
۰/۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۱	۰/۳۴	۸	خطا
ضرب تغییرات			۱۰/۱۳	

** معنی دار در سطح ۱٪، * معنی دار در سطح ۵٪، ns: غیر معنی دار.

تتراهیدروکانابینول (THC)، کانابیدول (CBD) و کانابیکرومن (CBC) داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر شوری بر میزان THC نشان داد که با افزایش سطح شوری از صفر به ۴ دیسی زیمنس بر متر میزان THC افزایش یافت و به تدریج با افزایش شوری (۶ و ۸ دیسی زیمنس بر متر) این میزان کاهش یافت به طوری که بیشترین میزان THC در شوری ۴ دیسی زیمنس بر متر (۷/۹۴ میلی گرم بر گرم گیاه خشک) و کمترین مقدار در شوری ۸ دیسی زیمنس بر متر (۴/۱۲ میلی گرم بر گرم گیاه خشک) به دست آمد (شکل ۵).

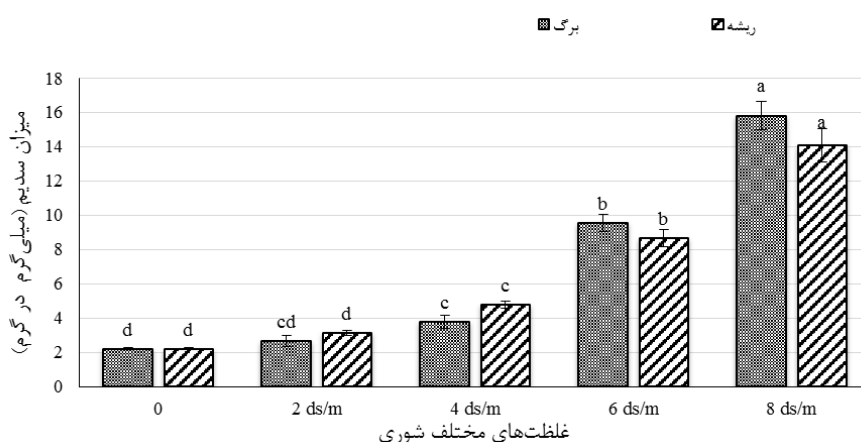
نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان دادند با افزایش غلظت شوری، مقدار کانابیدول (CBD) در گیاه شاهدانه افزایش یافت به طوری که در غلظت ۴ دیسی زیمنس بر متر بیشترین مقدار (۱/۴۵ میلی گرم بر گرم گیاه خشک) و در تیمار شاهد (۰/۷۰ میلی گرم بر گرم

میزان کلر برگ و ریشه: از نظر میزان کلر برگ و ریشه در بین تیمارهای شوری تفاوت معنی داری ($P \leq 0.01$) وجود داشت (جدول ۱). نتایج نشان داد که افزایش غلظت شوری سبب افزایش مقدار کلر برگ و ریشه گیاه شد. بیشترین مقدار کلر برگ (۷۰/۶ میلی گرم در گرم) در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر و کمترین مقدار آن (۱۴/۱ میلی گرم در گرم) در تیمار شاهد گزارش شد. همچنین بیشترین مقدار کلر ریشه (۹۲/۶ میلی گرم در گرم) در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۲۱/۲ میلی گرم در گرم) گزارش شد (شکل ۳).
میزان کانابینوئیدهای CBD، THC و CBC: آنالیز کروماتوگرام GC-MS عصاره گیاه نشان دهنده وجود ترکیبات کانابینوئیدی مختلف در گیاه می باشد (شکل ۴). تجزیه واریانس نتایج نشان داد شوری تاثیر معنی داری ($P \leq 0.01$) بر میزان کانابینوئیدهای

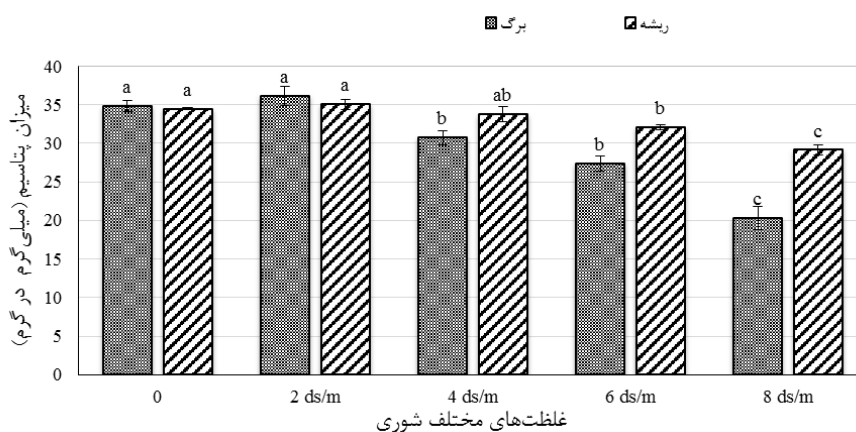
به طوری که بیشترین میزان CBC در شوری ۲ دیسی زیمنس بر متر (۰/۰۱۲ میلی گرم بر گرم گیاه خشک) و کمترین مقدار در شوری ۸ دیسی زیمنس بر متر (۰/۰۰۶ میلی گرم بر گرم گیاه خشک) به دست آمد. همچنین با توجه به نتایج مشخص شد که بین غلظت‌های شوری ۶ دیسی زیمنس و ۸ دیسی زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری دیده نشد در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۷).

گیاه خشک) کمترین مقدار به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد تیمارهای شاهد، ۶ و ۸ دیسی زیمنس بر متر از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند و بین آن‌ها تفاوت معنی‌داری دیده نشد (شکل ۶).

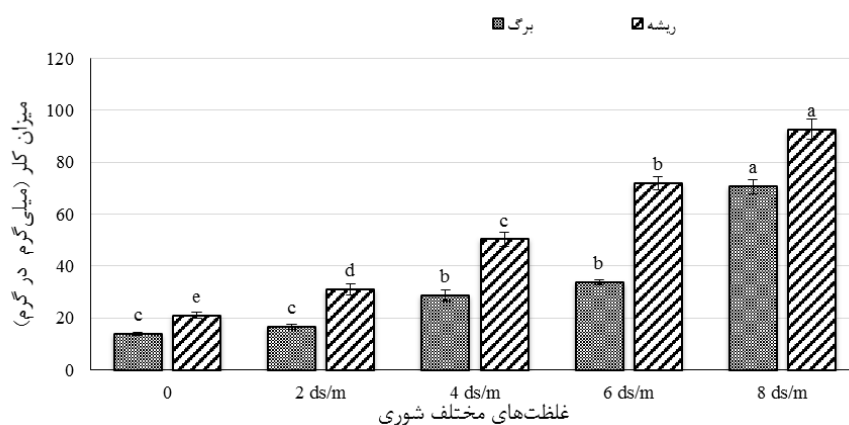
مقایسه میانگین اثر سطوح شوری بر میزان CBC در گیاه شاهدانه نشان داد که با افزایش سطح شوری از صفر به ۲ دیسی زیمنس بر متر میزان CBC افزایش یافت و به تدریج با افزایش غلظت شوری (۴، ۶ و ۸ دیسی زیمنس بر متر) این میزان کاهش یافت



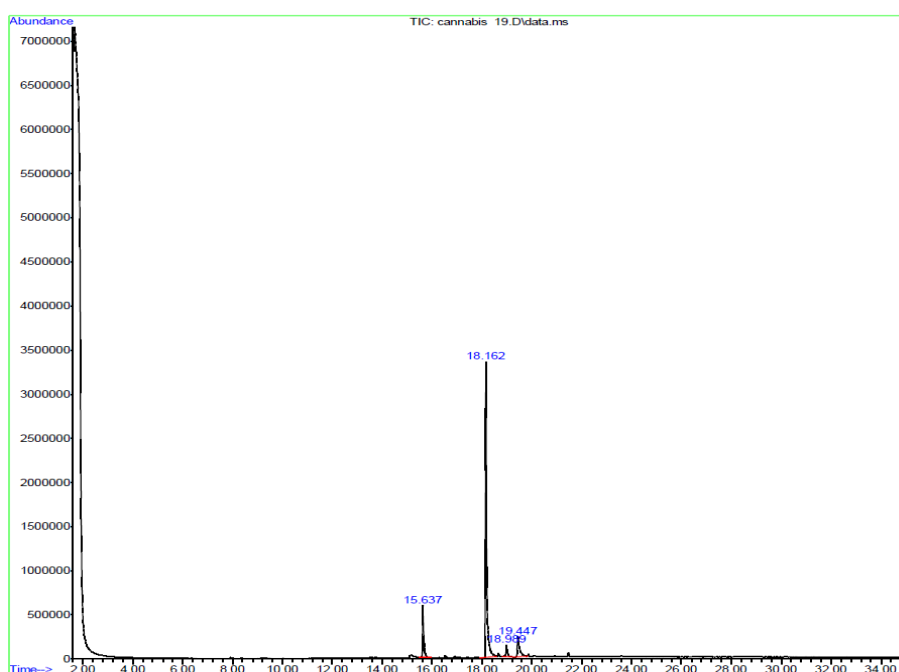
شکل ۱: تاثیر غلظت‌های مختلف شوری بر میزان سدیم در گیاه شاهدانه



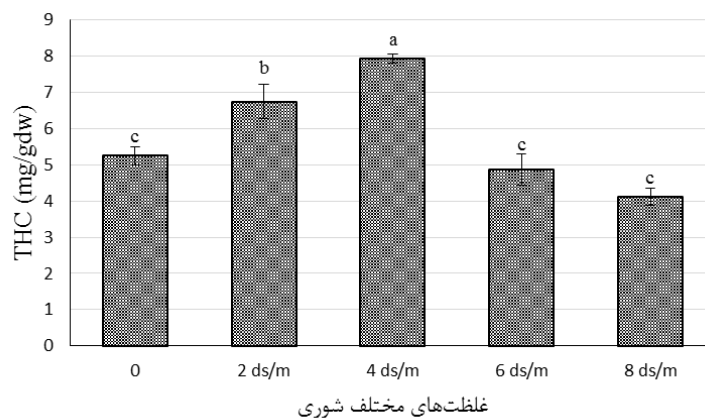
شکل ۲: تاثیر غلظت‌های مختلف شوری بر میزان پتاسیم در گیاه شاهدانه



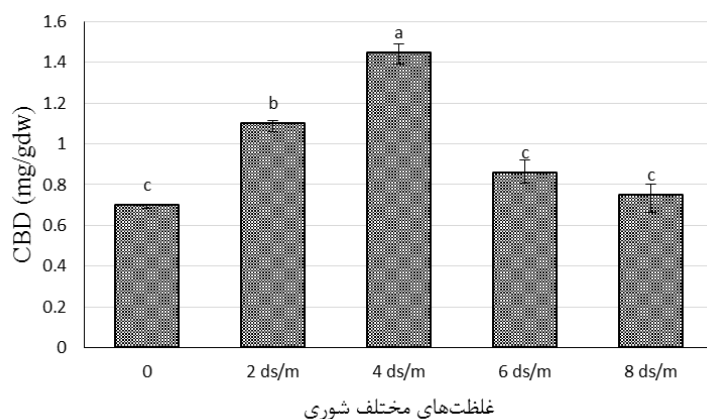
شکل ۳: تاثیر غلظت‌های مختلف شوری بر میزان کلر در گیاه شاهدانه



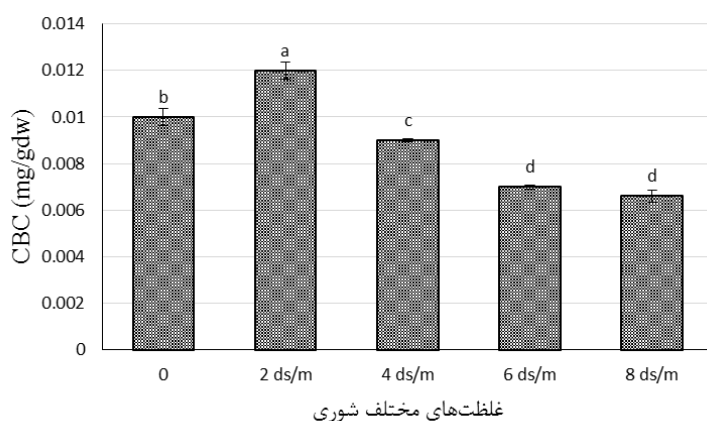
شکل ۴: کروماتوگرام ترکیبات کانابینوئیدی عصاره برگ گیاه شاهدانه



شکل ۵: تاثیر غلظت‌های مختلف شوری بر میزان تتراهیدروکانابینول (THC) در گیاه شاهدانه



شکل ۶: تاثیر غلظت‌های مختلف شوری بر میزان کانا비دول (CBD) در گیاه شاهدانه



شکل ۷: تاثیر غلظت‌های مختلف شوری بر میزان کاناپیکرومن (CBC) در گیاه شاهدانه

بحث

هستند که رشد و نمو گیاه نقش کلیدی دارند

(Ghassemi and Raei, 2021).

در مطالعه حاضر نیز با افزایش شوری مقدار پتاسیم برگ و ریشه شاهدانه کاهش یافت. پتاسیم از عناصر غذایی پرمصرف است که نقش زیادی در واکنش گیاهان به تنش‌های محیطی به خصوص شوری دارد. افزایش میزان جذب پتاسیم از طریق ریشه می‌تواند اثرات منفی یون سدیم را کاهش دهد. از آنجاییکه پتاسیم موجب پایین نگه‌داشتن پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه می‌شود، برای حفظ و ایجاد فشار تورژسانس و تنظیم تعادل آبی گیاه نقش کلیدی دارد (Yan-de et al., 2007). به‌رحال یکی از اثرات

بطور کلی نتایج نشان داد که شوری بر میزان سدیم، پتاسیم و کلر اثر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) داشته است و با افزایش سطوح شوری، میزان پتاسیم کاهش و میزان سدیم و کلر افزایش یافته‌است. شوری با ایجاد عدم تعادل یونی و دسترسی کم به آب سبب تنش یونی و تنش اسمزی می‌شود (Passamani et al., 2017) و سبب افزایش غلظت سدیم و کلرید در سیتوزول می‌شود که به طور بالقوه به سلول و در نتیجه گیاه آسیب می‌رساند. همچنین افزایش سطوح شوری باعث کاهش جذب کلسیم، منیزیم و پتاسیم می‌شود که این یون‌ها از عناصر اصلی و ضروری

دایره محیطیه در ریشه محل ساخت آلکالوئیدها بوده و آنزیم‌های مسیر بیوستنز آن‌ها در این محل قرار دارند (Oksman Caldentey and Hiltunen, 1996). آلکالوئیدها، متابولیت‌های ثانویه مهمی هستند که دارای خواص دارویی بسیار خاص و متنوع می‌باشند که از اسیدهای آمینه مانند اورنیتین، لیزین، فنیل آلانین، تریپتوفان، تیروزین، هیستیدین و اسید آسپارتیک مشتق می‌شوند. این آلکالوئیدها، اتم نیتروژن خود را از طریق ترانس آمیناسیون به دست می‌آورند و تولید آن‌ها طی تنش‌های غیرزیستی افزایش می‌یابد (Mahajan et al., 2020). قبلا نیز گزارش شده است مقادیر آلکالوئیدهای گونه *Datura stramonium* و *Hyoscyamus muticus* تحت تنش شوری افزایش یافته است (Ali et al., 2011). همچنین اعمال تنش شوری در دو گونه از جنس *Datura* شامل *D. metel* و *D. stramonium* منجر به افزایش محتوای آلکالوئیدها گردید (Abdel Rahman et al., 2013). مقدار آلکالوئیدهای گیاه *Catharanthus roseus* به‌طور معنی‌داری در شرایط شوری افزایش یافت (Abdul Jaleel et al., 2008). به‌رحال گیاهان برای مقابله با شوری، راهکارهای متعددی را بکار می‌برند که یکی از این راهکارها تولید متابولیت‌های ثانویه می‌باشد که در برخی از گیاهان گزارش شده است (Arif et al., 2020).

نتیجه‌گیری نهایی

بطورکلی نتایج نشان داد که میزان سدیم، پتاسیم، کلر و کانابینوئیدهای THC، CBD و CBC تحت تاثیر تیمارهای مختلف شوری قرار گرفتند و با افزایش سطح شوری، میزان یون‌های سدیم و کلر در برگ و ریشه نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت و میزان پتاسیم برگ و ریشه گیاه کاهش یافت. بیشترین میزان THC و CBD در مرحله رشد رویشی گیاه در غلظت

شوری، کاهش دسترسی به مواد غذایی ضروری مانند پتاسیم می‌باشد و با کاهش فشار تورگر سلولی سبب کاهش رشد گیاه می‌شود (Ghassemi and Raei, 2021).

نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه اثر شوری بر روی گیاه آتریپلکس (Khan et al., 2000) و بابونه (Baghalian et al., 2008) مطابقت داشت. به‌رحال شوری جذب مواد غذایی را با مانع مواجه می‌کند و باعث عدم تعادل محتوای مواد معدنی در گیاه می‌شود و معمولا غلظت زیاد نمک باعث جلوگیری از جذب آهن، کلسیم، پتاسیم، روی، بر و منیزیم می‌شود. شوری در برگها عموما باعث کاهش محتوای N, K و Zn و در ریشه‌ها باعث کاهش Ca, K, P و Mg می‌شود که در نهایت سبب تغییر در رشد و سایر فعالیت‌های فیزیولوژیکی و ... می‌شود (Arif et al., 2020).

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شوری بر میزان کانابینوئیدهای THC، CBD و CBC تاثیر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) داشته است. متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی در سازگاری گیاهان به شرایط محیطی دارند و مقدار آنها در پاسخ به تنش‌های غیر زیستی تجمع می‌یابد و این ترکیبات در گیاهان، نقش مهمی در رابطه گیاه با محیط نامطلوب دارند (Mahajan et al., 2020). به‌رحال یکی از پاسخ‌های گیاهان در هنگام مواجهه شدن با تنش‌ها، افزایش القا متابولیسم ترکیبات فیتوشیمیایی و در نتیجه افزایش تولید این ترکیبات به عنوان ترکیبات دفاعی می‌باشد (Elhaak et al., 2014) و تحقیقات متعددی نشان داده است که ساخت ترکیبات فیتوشیمیایی توسط فاکتورهای محیطی مختلفی نظیر تنش شوری، خشکی و شدت نور تنظیم می‌شود (Muthulakshmi et al., 2015). در مطالعه حاضر مقدار THC، CBD و CBC در تیمار شوری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته است.

متر)، میزان کانابینوئیدهای گیاه شاهدهانه شامل THC، CBD و CBC افزایش یافته است.

شوری ۴ دیسی زیمنس بر متر و بیشترین میزان CBC در شوری ۲ دیسی زیمنس بر متر حاصل شد. بنابراین در سطوح پایین شوری (کمتر از ۴ دیسی زیمنس بر

References

1. Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A. and Hayat, S. 2020. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156: 64-77.
2. Abdel Rahman, R., Gomma, S.E., Abdelsalam, N.R., El-Wakil, H.M.F., Khaled, A.S. and Hassan, H. M. 2013. Effect of sodium chloride on tropane alkaloids accumulation and proline content in *Datura metel* and *D. stramonium* callus cultures. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1:197-210.
3. Abdul Jaleel, Ch., Sankar, B., Sridharan, R. and Panneer Selvam, R. 2008. Soil salinity alters growth, chlorophyll content and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. *Turkish Journal of Biology*, 32:79-83.
4. Aghdasi, M, Fatemi, M. and Asadi A. 2019. The impact of salt stress on growth and some biochemical parameters of (*Echinaceae purpurea* L.). *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 53:1-15.
5. Ali, S.Gh., Rab, A., Khan, N.U. and Nawab, K. 2011. Enhanced proline synthesis may determine resistance to salt stress in tomato cultivars. *Pakistan Journal of Botany*, 43: 2707-2710.
6. Asadi, S., Moghadam, H., Naghdi Badi, H., Naghavi, M. and Salami, S.A. 2019. Review on agronomic, phytochemical and pharmacological aspects of cannabis (*Cannabis sativa* L.). *J. Med. Plants*, 18 (70):1-20.
7. Ashraf, M., Mukhtar, N., Rehman, S. and Rha E.S. 2004. Salt induced changes in photosynthetic activity and growth in a potential medicinal plant Bishop`s weed (*Ammi majus* L.). *Photosynthetica*. 42(4): 543-550.
8. Baghalian, K., Haghiry, A., Naghavi, M.R., and Mohammadi, A. 2008. Effect of saline irrigation on agronomical and phytochemical characters of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Scientia Horticulturae*, 116: 437-441.
9. Behdad, A., Mohsenzadeh, S., Azizi, M. and Moshtaghi, N., 2020. Salinity effects on physiological and phytochemical characteristics and gene expression of two *Glycyrrhiza glabra* L. populations. *phytochemistry*, 171: 112236.
10. Bojović, B., Delić, G., Topuzović, M. and Stanković, M. 2010. Effects of NaCl on seed germination in some species from families Brassicaceae and Solanaceae. *Kragujevac Journal of Science*, 32:83-87.
11. Chapman, H.D., and Pratt, P.F. 1961. *Methods of analysis for soils, plants and waters*. Division of Agric. Sci., University of California, Riverside, U.S.A. pp 161-175.
12. Claussen, W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science* 168:241-248.
13. Elhaak, M.A., Abo-Kassem, E.M. and Saad-Allah, K.M. 2014. Effect of the combined treatment with sodium and calcium chlorides on the growth and medicinal compounds of *Cichorium intybus*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3:613-630.
14. Ghassemi, S. and Raei, Y., 2021. Evaluation of ion content, productivity and essential oil quality of garlic under saline conditions and biochar and polyamine treatments. *Journal of Food Composition and Analysis*, 96: 103720.
15. Gupta, B. and Huang, B. 2014. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical and Molecular Characterization. *International Journal of Genomics*, 1-18.

16. Hassibi, P., Zandieh, C., Ghaemmaghami, N., Rashidi Rezvan, N., Najafi, H. and Ghaemmaghami, F. 2010. Study of some physiological characteristics of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under NaCl and CaCl₂ salinity stress. Iranian Journal of Crop physiology, 2: 3-24.
17. Iraj Mareshk, M. and Moghaddam M. 2021. Physiological and biochemical responses of Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.) to mycorrhizal fungi application under salinity stress condition. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, 60: 79-94.
18. Iran-nejad, H., Poshtkahi, M., Piri, P. and Javanmardi, Z. 2007. Medicinal plants crop: cannabis, Flaxseed and Castor. (Vol.1). Ayij Publication, Tehran. Iran. 128 p.
19. Jalali, S, Salami, S.A., Sharifi, M. and Sohrabi, S. 2019. Signaling compounds elicit expression of key genes in cannabinoid pathway and related metabolites in cannabis. Industrial Crops and Products, 133:105-10.
20. Khan, M.A., Ungar, I.A., and Showalter, A.M. 2000. The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte *Suaeda fruticosa* Forssk. J. Arid Environ. 45: 73–84.
21. Mahajan, M., Kuiry, R. and Pal, P.K., 2020. Understanding the consequence of environmental stress for accumulation of secondary metabolites in medicinal and aromatic plants. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 18 :100255.
22. Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, 59: 651-681.
23. Muthulakshmi, S.M., Gurulakshmi, S.G. and Rajathi, S. 2015. Effect of salt stress on physiological and biochemical characterization in *Solanum nigrum* L. International Journal of Science and Research, 4: 567-571.
24. Oksman Caldentey, K.M. and Hiltunen, R. 1996. Transgenic crops for improved pharmaceutical products. Field Crops Research, 45: 57 - 69.
25. Passamani, L.Z., Barbosa, R.R., Reis, R.S., Heringer, A.S., Rangel, P.L., Santa-Catarina, C., Grativol, C., Veiga, C.F., Souza-Filho, G.A. and Silveira, V., 2017. Salt stress induces changes in the proteomic profile of micropropagated sugarcane shoots. PLoS One, 12(4): e0176076.
26. Saadati, A., Pourtahmasebi, K., Salami, S.A. and Oladi, R. 2013. Bast Fiber Properties of Six Iranian Hemp Population. Iranian Journal of Natural Resources, 68 (1): 121-132.
27. Said-Al Ahl, H.A.H. and Omer, E.A. 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress: a review. Kerla Polonica, 57:72-87.
28. Tayyab, M. and Shahwar, D. 2015. GCMS analysis of *Cannabis sativa* L. from four different areas of Pakistan. Egyptian Journal of Forensic Sciences, 5(3): 114-125.
29. Yan-de, J., Zhen-Li, H.E. and Xiao-e, Y. 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. Journal of Zhejiang University Science, 8: 192-207.
30. Yildirim, E., Karlidag, H. and Dursun, A. 2011. Salt tolerance of physalis during germination and seedling. Pakistan Journal of Botany, 43:2673-2676.
31. Yoshimatsu, K., Iicla, O. and Kitazawa, T. 2004. Growth characteristics of *Cannabis sativa* cultivated in a phytotron and in the field. Bulletin on Natural Instruction of Health Science, 122: 16-20.
32. Zhang, J.L., Flowers, T.J. and Wang, S. M. 2010. Mechanisms of sodium uptake by roots of higher plants. Plant Soil, 326: 45-60.

Study on phytochemical changes of *Cannabis sativa* L. extract at vegetative growth stage under salinity stress

Rabbani, A.¹, Ardakani, M.¹, Naghdi Badi, H.^{2*}, Rezazadeh, SH.², Sarajooghi, M.¹

¹PhD Student, Department of Agronomy, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

²Professor, Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

³Associate Professor, Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

³Assistant Professor, Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

⁵Assistant Professor, Department of Agronomy, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

Received: 12-12-2020; Accepted: 29-4-2021

Abstract

Environmental stresses such as salinity have a great impact on the amount and quality of secondary metabolites of medicinal plants. To investigate the effect of salinity on phytochemical attributes of cannabis (*Cannabis Sativa* L.), an experiment in the form of a randomized complete block design with three replications and 5 salinity treatments (0, 2, 4, 6 and 8 dS/m) was conducted in 2019 in medicinal plants research center, Karaj, Iran. In this study, the amount of potassium (K) and sodium (Na) elements and chlorine (Cl) in leaf and root organs of the plant were measured by a flame photometer and colorimetric method, respectively. The content of cannabinoids compounds in leaves including tetrahydrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD) and cannabichromene (CBC) were measured by GC/MS. The results showed that there was a significant difference ($P \leq 0.01$) among different salinity treatments in terms of Na, K, Cl and cannabinoids THC, CBD and CBC. With increasing salinity level, the amount of Na and Cl ions in leaves and roots increased compared to the control treatment and the highest amount of leaf and root Na (15.81, 14.06 mg/g, respectively) was observed in salinity treatment of 8 dS/m. Also, increasing the salinity concentration caused a decrease in leaf and root K of the plant and the highest amount of leaf and root K (34.83, 34.46 mg / g, respectively) was related to the control treatment. The highest amount of THC and CBD (7.94 and 1.45 mg / g of dried plant, respectively) at salinity concentration of 4 dS / m and the highest amount of CBC at salinity of 2 dS / m (0.012 mg / g dry leaf) were obtained. Therefore, salinity changes the amount of cannabinoids in cannabis and the highest levels of THC, CBD and CBC are obtained at low salinity levels.

Keywords: *Cannabis sativa* L., Cannabichromene, Cannabidiol, Ion content, Tetrahydrocannabinol, Salinity stress.

*Corresponding author: naghdi@imp.ac.ir