بررسی اثر محلول پاشی سایکوسل بر ماده مؤثره و برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی گیاه دارویی *Cannabis sativa* L.

علی صالحی ساردویی[1*]، حمیده آزاد قوجه‌بیگلو[2]، سعید فتاحی سیاه کمری[3]، ایرج خزایی[4]

[1]دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[2]کارشناسی‌ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[3]کارشناسی‌ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

[4]کارشناسی‌ارشد، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۱۰

چکیده

گیاه شاهدانه با نام علمی *Cannabis sativa* L. از گیاهان زراعی قدیمی با مصرف دارویی و صنعتی است که برای استفاده از الیاف آن کشت می شود و همچنین مسکن موثری نیز می‌باشد. در تحقیق حاضر به دلیل اهمیت دارویی و صنعتی گیاه شاهدانه اثر سایکوسل بر میزان ماده دلتا-۹-تتراهیدروکانابینول (THC)، در هر دو پایه نر و ماده گیاه شاهدانه تحقیقی در قالب آزمایش فاکتوریل کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۳ گلخانه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان اجرا گردید. فاکتور ها شامل دو پایه نر و ماده گیاه شاهدانه و سطوح مختلف ماده سایکوسل (۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. اندازه‌گیری مقدار THC[1] با روش کروماتوگرافی مایع و دستگاه UPLC[2]، و پروتئین محلول، قندهای محلول و مالون دآلدئید با استفاده از اسپکتروفتومتر آنالیز گردید. نتایج نشان داد با افزایش سطح تنظیم کننده سایکوسل به ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، مقدار ماده تتراهیدروکانابیول (THC) در برگ و گل بوته های پایه ماده بطور معنی‌داری افزایش یافت. مقایسه اثر متقابل پایه ها و سایکوسل مشخص شد که ماده مؤثره برگ پایه ماده از افزایش بیشتری نسبت به پایه نر تا غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر برخوردار بود. همچنین مشخص شد که تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو پایه، دارای بالاترین میزان پروتئین در مقایسه با سایر تیمارها بود. پایه نر در مقایسه با ماده تا سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بالاترین بوده اما در سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر پایه ماده افزایش یافت. کمترین مقادیر مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها در گیاهان نر و ماده تیمار شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل مشاهده گردید. غلظت‌های سایکوسل نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش کربوهیدرات‌های محلول و قندهای احیاء کننده داشت. با توجه به نتایج بدست آمده جهت دستیابی به حداکثر ماده موثره THC، کاربرد تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل در پایه ماده گیاه شاهدانه قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: سایکوسل، شاهدانه، قندهای احیاء کننده، ماده موثره

1.Tetrahydrocannabind
2.Ultra-Performance Liquid Chromatography

*نویسنده مسئول: alisalehisardoei1987@gau.ac.ir

مقدمه

گیاه شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) گیاهی گلدار، دوپایه و از خانواده کانابیاسه است و دارای برگهای پنجه‌ای با هفت برگچه دندانه‌دار است (Punja and Holmes, 2020). شاهدانه یکی از گیاهانی می‌باشد که حاوی متابولیت‌های ثانویه زیادی است (Backer et al., 2019). که این ترکیبات ثانویه حاوی اجزای نیتروژن‌دار، ترکیبات فلاونوئیدی، آلکان‌ها و دی هیدرواستیلبن‌ها در این گیاه شناسایی شده است. کانابینوئیدها گروهی از ترکیبات C_{21} ترپنوفنولی می‌باشند که تاکنون به صورت منحصر به فردی در *Cannabis sativa* یافت شده است (Page and Nagel, 2006; dhikary et al., 2021). بیشترین این ترکیبات دارویی شناخته شده مربوط به THC است (Campbell et al., 2021). به علت حضور مواد روانگردان بسیار بالقوه دلتا ۹-تتراهیدروکانابینول (Δ9-THC)؛ توجه بیوشیمیایی بر روی *Cannabis sativa* در واریته‌هایی از این گیاه متمرکز شده است که کاربرد داروئی دارند (Elbatsh et al., 2012). کانابینوئیدها در تمام بخش‌های این گیاه وجود دارد، اما بیشترین مقدار این ماده را می‌توان در مویچه‌های غده‌ای بر روی سطح برگ‌ها و گل‌ها یافت (Welling et al., 2021). همچنین کانابینوئیدها که عمدتا ترکیبات ترپنوفنولیک هستند در گیاهان شاهدانه به وفور وجود دارند، که در جنس‌های شاهدانه در زمان گلدهی خصوصیات رشدی متفاوتی نشان می‌دهند (Ivankov et al., 2020). جنس ماده ضخیم‌تر، کوچیک‌تر و سیکل زندگی بیشتری نسبت به گیاه نر دارد (Chaohua et al., 2016). وجود بعضی اختلافات در خصوصیات بیوشیمیایی و مقدار متابولیت‌های ثانویه بین جنس نر و ماده گیاه شاهدانه به اثبات رسیده است (Flajšman et al., 2021).

یکی از روش‌های افزایش مواد موثره گیاهان دارویی استفاده از محرک‌های رشد است. محرک‌های رشد گیاهی در تمام جنبه‌های چرخه حیاتی گیاه نقش دارند. به طوری که این مواد می‌توانند اثر عمقی بر روی واکنش‌های گیاه داشته باشند (Welling et al., 2021). سایکوسل[1] جزو ترکیبات انیومی[2] بوده و از پر مصرف‌ترین پاکوتاه‌کننده‌های رشد گیاهی در دنیا است و امروزه جهت کنترل رشد گیاهان استفاده فراوانی می‌گردد (Youn-Ho et al., 2020). سایکوسل با نقشی که در مسیر پیامرسانی جیبرلین، باعث جلوگیری از ساخت آنزیم انت کائورن سینتاز[3] شده و با جلوگیری از طویل شدن و رشد سلول‌ها، ارتفاع گیاه را کاهش می‌دهد (Khalilzadeh et al., 2016) که باعث کمتر شدن سطح تعرق و تحمل گیاه به سطح تنش می‌شود. سایکوسل با تاثیر بر عملکرد فعالیت آنزیمی، کمتر شدن تجزیه‌ی پروتئین، بیشتر شدن اسیدهای آمینه، افزایش ضخامت برگ، کاهش در تعداد روزنه در واحد سطح برگ، در نتیجه باعث کاهش از دست دادن محتوای رطوبت نسبی و افزایش میزان سبزینگی برگ، موجب افزایش تحمل به تنش می‌شود (Lubell and Brand, 2018). در یک آزمایش کاربرد سایکوسل به مقدار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایشی در سبزینگی گل آهار (*Zinnia elegans*) شد که دلیل آن افزایش سنتز سبزینگی بود (Rossini et al., 2005). استفاده از سایکوسل موجب کمتر شدن سطح برگ به علت دخالت در ساخت جیبرلین، افزایش اسید آبسیزیک و جلوگیری از طویل شدن سلول می‌شود (Gopi et al., 2005). اصولاً استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد مانند سایکوسل باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در

1. Cycocel
2. Oniome compounds
3. Ent- kaurene synthase

مقایسه با شاهد شدند (Akbari et al., 2015). نتایج آزمایشی نشان داد تیمارهای سایکوسل بر زیتون موجب افزایش وزن تر برگ و کلروفیل a نسبت به شاهد شد (Akbari, and Jalili Marandi, 2013). تاکنون تحقیق علمی در مورد مقدار ماده مؤثره گیاه شاهدانه که گیاهی دارویی و صنعتی و همین‌طور بومی ایران می‌باشد، انجام نشده است. بنابراین، هدف از این پژوهش، واکنش پایه‌های این گیاه بوسیله سطوح مختلف سایکوسل بر ماده مؤثره، تغییرات کلروفیل، کارتنوئید، پروتئین‌های محلول کل، غلظت مالون دآلدئید، کربوهیدرات‌های محلول و قندهای احیاکننده بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۳ با استفاده از طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با دو عامل هورمون (با چهار سطح هورمون سایکوسل (صفر (شاهد)، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)) و پایه گیاه شاهدانه (نر و ماده) در سه تکرار و هر تکرار حاوی سه گلدان بود در گلخانه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان صورت گرفت. در این آزمایش از گلدان‌هایی استفاده شد با ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر. برای آماده کردن بستر کاشت ترکیبی از ۲ قسمت حجمی پرلیت، ۱ قسمت حجمی گیاه خاک و ۱ قسمت حجمی خاک باغچه تهیه و به صورت یکنواخت مخلوط گردید (شکل ۱). در هر گلدان تعداد ۶ بذر کاشته شد و بعد از دو هفته تعداد گیاهان در هر گلدان به یکی کاهش یافت (در مجموع ۷۲ گلدان مورد استفاده قرار گرفت). محلول سایکوسل در دو مرحله با فواصل ۱۰ روزه در مرحله ۵ جفت برگی محلول‌پاشی گردید. پس از رشد بوته ها تا مرحله گلدهی، بوته های نر بعد از شکوفایی ۲/۳ گل‌های نر و بوته های ماده بعد از ظهور کامل گل‌های ماده برداشت شدند.

شکل ۱: نمونه های گیاهی

عصاره‌گیری ماده دلتا ۹- تتراهیدروکانابینول (THC): برای عصاره‌گیری THC، ۵۰ میلی‌گرم بافت خشک برگ یا گل با کلروفرم به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از صاف کردن عصاره، حلال تبخیر شد و باقیمانده در ۰/۵ میلی‌لیتر متانول حل شد. اندازه‌گیری مقدار THC با روش کروماتوگرافی مایع و دستگاه (Ultra-Performance Liquid Chromatography UPLC) ساخت شرکت Waters با

آشکارساز PDA و ستون (1/ mm × 150 mm) UPLC BEH C_{18} با ذراتی به قطر ۱/۷ میکرومتر انجام شد. شیب استونیتریل- آب با بافر (pH=305.0) درصد TFA از ۳۰:۷۰ تا ۰:۱۰۰ در ۵ دقیقه، ۰:۱۰۰ در ۱ دقیقه، برگشت به ۳۰:۷۰ در ۱ دقیقه با سرعت جریان ۰/۴میلی‌لیتر در دقیقه، طول موج ۲۳۰ نانومتر و حجم تزریق ۷ میکرولیتر برای THC استفاده شد (Mansouri and Asrar, 2014).

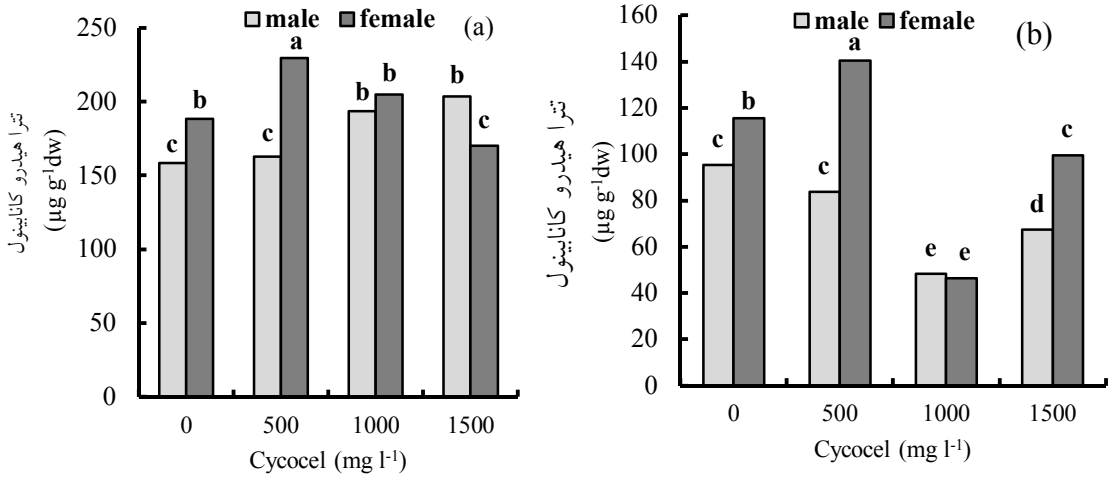
پروتئین کل بر اساس روش برادفرد (1976) سنجش شد. سنجش غلظت مالون دآلدئید طبق روش هید و پاکر (Heath and Packer, 1969)، براساس غلظت مالون دی آلدهید تولید شده (در اثر آسیب به غشا) و سپس واکنش آن با تیویاربیوتیک اسید که ترکیب رنگی تیوباریبوتیک اسید-مالون دی آلدهید تشکیل می‌دهد، اندازه‌گیری گردید. میزان سایر آلدئیدها (پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی متیل استال) به روش میرس و همکاران (Meirs et al., 1992) صورت گرفت. اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول با روش فالز (Fales, 1951)، سنجش میزان قندهای احیاکننده (Somogy, 1952) مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه آماری

تجزیه واریانس و سپس میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد از طریق نرم‌افزار SPSS مقایسه شدند.

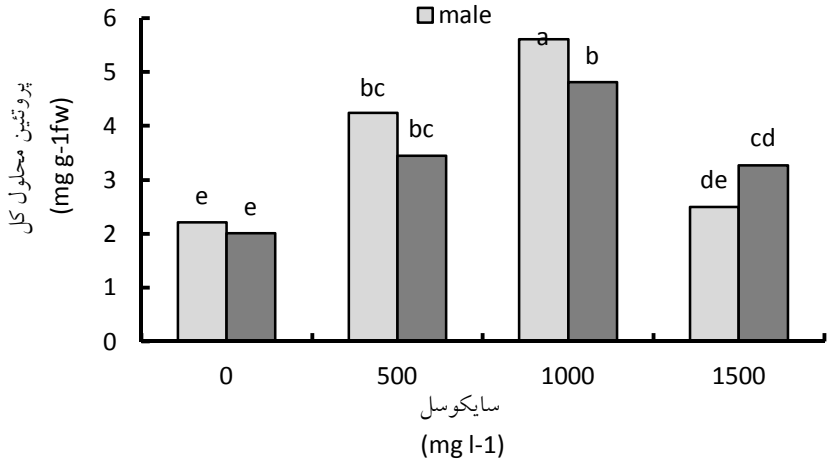
نتایج

ماده مؤثره در برگ و گل: با افزایش سطح تنظیم کننده سایکوسل به ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، تتراهیدروکانابینول (THC) برگ ماده مؤثره گیاه شاهدانه در جنس ماده بطور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۲-a). با توجه به شاخص تتراهیدروکانابیول (THC) بین جنس‌های نر و ماده در تمام سطوح بازدارنده سایکوسل، تفاوت معنی‌داری وجود داشت به طوری‌که در جنس ماده در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به بالاترین مقدار خود رسید در حالیکه در جنس نر این مقدار، غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. از مقایسه اثر متقابل جنس‌ها و سایکوسل می‌توان نتیجه گرفت که جنس ماده افزایش بیشتری را نسبت به جنس نر تا غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از خود نشان داده است. تیمار شاهد، کمترین مقدار ماده مؤثره در جنس ماده را دارا بود که با تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری را نشان داد (شکل ۲).



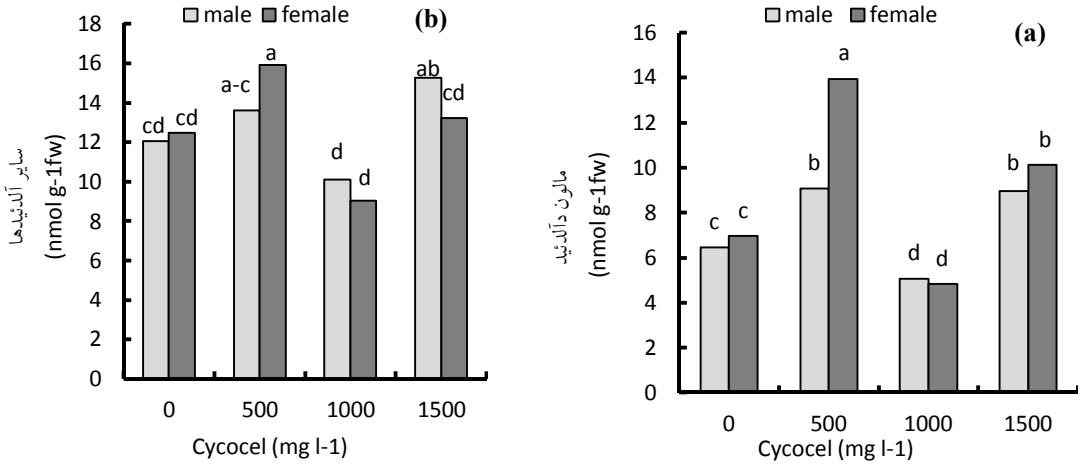
شکل ۲: تأثیر غلظت‌های مختلف سایکوسل بر میزان تتراهیدروکانابینول (THC) (a): در برگ و (b): در گل، در پایه‌های شاهدانه

پروتئین محلول کل: نتایج نشان می‌دهد که تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بالاترین میزان پروتئین را در مقایسه با سایر تیمارها در گیاهان نر و ماده را ایجاد کرده است. جنس نر در مقایسه با ماده تا سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان پروتئین بالاتری تولید نمود اما در سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر جنس ماده افزایش بیشتری از خود نشان داد (شکل ۳).



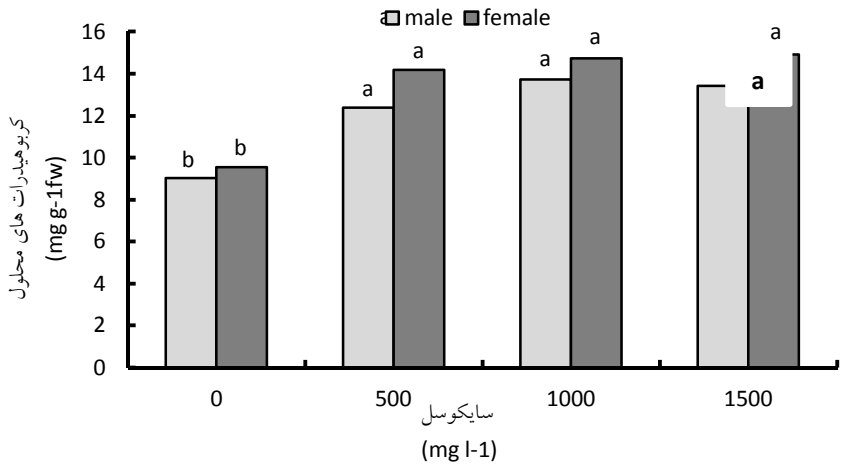
شکل ۳: تأثیر غلظت‌های مختلف سایکوسل بر پروتئین محلول کل در پایه‌های شاهدانه

مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها: کمترین مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها در گیاهان نر و ماده تیمار شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم سایکوسل مشاهده گردید. غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل افزایش معنی‌داری در مقدار مالون دآلدئید ایجاد کردند (شکل ۴).



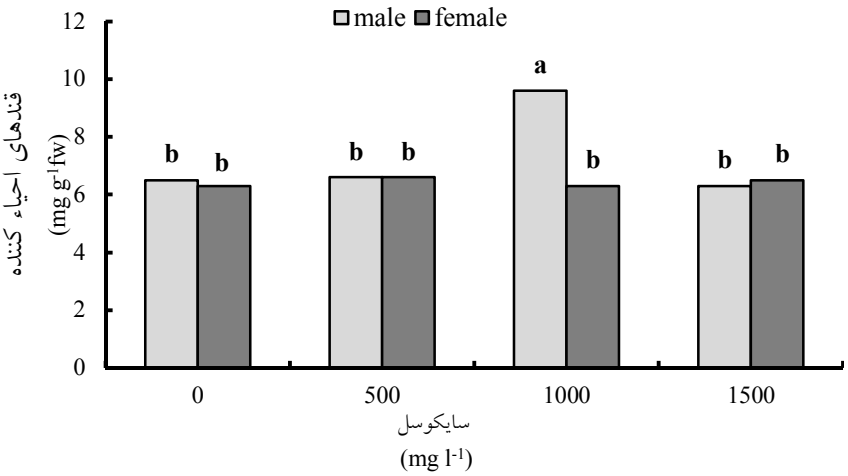
شکل ٤: تأثیر غلظت‌های مختلف سایکوسل بر میزان مالون دآلدئید (a) و سایرآلدئیدها (b) در پایه‌های شاهدانه

کربوهیدرات‌های محلول: غلظت‌های مختلف سایکوسل نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش معنی دار کربوهیدرات‌های محلول گردید. گیاهان ماده نسبت در مقایسه با گیاهان نر دارای کربوهیدرات‌های محلول بیشتری بودند (شکل ۵).



شکل ۵: تأثیر غلظت‌های مختلف سایکوسل بر کربوهیدرات‌های محلول در پایه‌های شاهدانه

قندهای احیاء کننده: غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل نسبت به سایر تیمارها تفاوتی معنی‌دار را در گیاهان نر در افزایش قندهای احیاء کننده باعث گردید. در گیاهان ماده هیچکدام از تیمارها با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند (شکل ۶).



شکل ٦: تأثیر غلظت‌های مختلف سایکوسل بر میزان قندهای احیاء کننده در پایه‌های شاهدانه

بحث

مطالعه حاضر اطلاعاتی را درباره تأثیر سایکوسل روی مقدار و THC در گیاه دو پایه *Cannabis sativa* و تفاوت‌هایی که بین گیاه نر و ماده در این مورد وجود دارد ارائه می‌دهد. که می‌تواند در این زمینه به افزایش شناخت و تحقیق بیشتر از فیزیولوژی این گیاه دو پایه، نقش هورمون‌های گیاهی در تفاوت بین جنس‌ها و استفاده از خواص دارویی این گیاه کمک کند. مقدار THC در گل‌ها و برگ‌های گیاهان ماده بیش از گیاهان نر بود (Taghinasab and Jabaji, 2020). البته این تفاوت در مورد برگ‌ها ناچیز و در مورد گل‌ها زیاد بود. تیمار سایکوسل باعث افزایش مقدار THC در برگ‌ها و گل‌ها شد. این مطالعه اولین گزارش در مورد بررسی گیاه شاهدانه بومی ایران از نظر مقدار THC و اثر هورمون‌های گیاهی روی تغییر مقدار این ترکیب در گیاه است. نتایج به دست آمده نشان داد با توجه به

نسبت بین مقادیر THC و THC که توسط مک کالوم و روسو (MacCallum and Russo, 2018) به‌عنوان معیاری جهت تعیین نوع دارویی و فیبری این گیاه تعریف شده است، شاهدانه بومی ایران با نسبت CBD/THCبالاتر از یک جزء گروه دارویی به شمار می‌آید. معمولاً THC به مقدار کم در برگهای تازه گیاه یافت می‌شود و این ترکیب بیشتر به صورت ترکیب اسیدی تتراهیدروکانابینولیک اسید (THCA) وجود دارد که به وسیله دکربوکسیلاسیون غیر آنزیمی در هنگام خشک کردن یا ذخیره کردن بافتهای گیاهی به THC تبدیل می‌شود (Duggan Peter and Kassiou, 2021).

مشابه نتایج بدست آمده در این آزمایش، هانکو و همکاران (Hanque et al., 2007) نیز گزارش دادند که سایکوسل باعث افزایش مقدار پیریترین (pyrethrin) (منوترپن) در گیاه *Chrysanthemum cinerariaefolium* شد. همچنین نشان دادند که سایکوسل می‌تواند از طریق تأثیر مستقیم روی آنزیم‌های بیوسنتز منوترپن‌ها مقدار این ترکیبات را افزایش دهند. در آزمایشی بر گیاه دارویی بادرشبویه نشان داده شد که تیمار سایکوسل ۶۰۰ میکرومولار با میزان ۲۱۷/۶ کیلوگرم در هکتار نسبت به سایر تیمارها عملکرد مواد موثره بیشتری داشت (Jalalvand et al., 2017). تتراهیدروکانابینول (THC) مهم‌ترین ماده مؤثره گیاه شاهدانه است که در درمان بیماری‌ها استفاده می‌شود (Lipson Feder et al., 2021). مقادیر THC در گیاه توسط کارل و همکاران (MacCallum and Russo, 2018) به عنوان معیاری جهت تعیین نوع دارویی و فیبری این گیاه تعریف شده است. شاهدانه بومی ایران با نسبت THC/CBD بالاتر از یک جزء گروه دارویی به‌شمار می‌آید. معمولاً THC به مقدار کم در برگ‌های تازه گیاه یافت می‌شود و این ترکیب بیشتر به صورت ترکیب اسیدی تتراهیدروکانابینولیک اسید (THCA) وجود دارد که به وسیله دکربوکسیلاسیون غیر آنزیمی در هنگام خشک کردن یا ذخیره کردن بافت‌های گیاهی به THC تبدیل می‌شود (Capriotti et al., 2021).

نتایج نشان‌دهنده افزایش میزان پروتئین محلول کل در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در جنس نر و ماده شاهدانه است. در این رابطه مجدم و همکاران (Mojadam et al., 2016) گزارش کردند که بیشترین درصد مربوط به تیمار ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام سایکوسل و کمترین با میانگین ۱۲ درصد به تیمار شاهد تعلق داشت. موحد دهنوی و همکاران (Movahed Dehnavi et al., 2010) بیشترین میزان پروتئین در تیمار بدون تنش تولید شد با استفاده از سایکوسل در غلظت 10^{-6} میلی‌مولار بود. سایکوسل بر بیوسنتز اسید آبسیزیک و جیبرلین، استرول‌ها اثر می‌گذارد (Sawan, 2008).

کمترین مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها در گیاهان نر و ماده تیمار شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم سایکوسل مشاهده گردید. از آنجائی که مسیر بیوسنتز جیبرلین و فیتواسترول‌های دخیل در غشاء یکی است، قابل پیش‌بینی است که بازدارندگی مسیر سنتز جیبرلین بر میزان فیتواسترول‌ها و در نتیجه سلامت غشاءها تأثیر بگذارد. این ترکیبات در اثر اکسیداسیون لیپیدهای غشاء بوجود می‌آیند. تغییرات مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها نشانگر میزان آسیب به غشاء سلولی است. محتوای مالون دآلدئید شاخصی برای آسیب غشای مرتبط با تنش اکسیداتیو است. در این آزمایش سایکوسل با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، مقدار مالون دآلدئید را در گیاهان نر و ماده کاهش داد. مقدار اندکی از مالون دآلدئید با دیگر مهارکننده‌های رشد مانند پاکلوبوترازول در گیاهچه‌های گندم توسط بروا و همکاران (Berova et al., 2002) گزارش شده است. اثر

سایکوسل بر پراکسیداسیون لیپیدی غشاء می‌تواند توسط جیبرلین باشد.

در تحقیق حاضر غلظت‌های سایکوسل نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش کربوهیدرات‌های محلول گردید. یکی از دلایلی که باعث افزایش قندهای محلول می‌شود بعلت مصرف سایکوسل است که باعث می‌شود کربوهیدات‌های نامحلول تخریب گردد و منجر به افزایش قندهای محلول می‌گردد. موحدی دهنوی و همکاران (Movahed Dehnavi et al., 2010) اثر سایکوسل بر قندهای محلول، پروتئین، درصد روغن و اسیدهای چرب روی گیاه کتان روغنی در شرایط کشت گلدانی بررسی کردند، نتایج آزمایش داد که تمامی سطح سایکوسل باعث افزایش قندهای محلول کتان روغنی نسبت به تیمار شاهد می‌شود. زینال و همکاران (Szynal et al., 2001)، گزارش دادند که کاربرد سایکوسل به‌صورت محلول‌پاشی باعث افزایش قندهای احیاء کننده در گیاهچه‌های گندم می‌شود.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که پاسخ گیاه شاهدانه وابسته است به غلظت‌های کاربردی سایکوسل و جنسیت گیاهان به‌طوری‌که گیاهان نر حساسیت بیشتری به تغییرات غلظتی هورمون سایکوسل نشان دادند و جنس ماده از لحاظ اکثر صفات نتایج بهتری داشت. به‌طور کلی بهترین تیمار از لحاظ مقاومت به استرس‌های محیطی و رشد بهینه تیمار غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل می‌باشد و اثرات مثبتی روی رشد گیاه ایجاد می‌کند. تراهیدروکانابیول (THC) ماده مؤثره برگ و گل شاهدانه در جنس ماده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. از مقایسه اثر متقابل جنس‌ها و سایکوسل می‌توان نتیجه گرفت، که ماده مؤثره برگ جنس ماده نتایج بهتری را نسبت به جنس نر تا غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از خود نشان داده است. به‌طور کلی در مطالعه انجام شده نشان داد که سایکوسل می‌تواند جهت افزایش دلتا ۹- تتراهیدروکانابینول مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسنگان مقاله از معاونت پژوهشی وقت دانشکده کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان که امکانات لازم جهت اندازه‌گیری THC را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Akbari, V., Jalili Marandi, R. 2013. The effects of cyclocheles on growth and photosynthetic pigments of two olive cultivars under different irrigation periods. Journal of Horticulture (Agricultural Sciences and Technology). 27 (4): 460-469. (In Persian).
2. Akbari, V., Jalili Marandi, R., and Farokhzad, A.R. 2015. Effect of Cycocel on antioxidative activity and malondialdehyde content of Mary and mission Olive (*Olea europaea* L.) cultivars under drought stress. Plant Production Technology. 15(2): 121-135. (Persian).
3. Backer, R., Schwinghamer, T., Rosenbaum, P., McCarty, V., Eichhorn Bilodeau, S., Lyu, D., Ahmed, M.B., Robinson, G., Lefsrud, M., Wilkins, O. and Smith, D.L. 2019. Closing the yield gap for Cannabis: a meta-analysis of factors determining *Cannabis* yield. Frontiers in plant science. 10, 495.
4. Berova, M., Zlatev Z., and Stoeva, N. 2002. Effect of paclobutrazol on wheat seedlings under low temperature stress. Bulgarian Journal of Plant Physiology. 28(1–2): 75-84.
5. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254.
6. Campbell, L.G., Peach, K., and Wizenberg, S.B. 2021. Dioecious hemp

(*Cannabis sativa* L.) plants do not express significant sexually dimorphic morphology in the seedling stage. Sci Rep. 11: 16825.
7. Capriotti Anna, L., Cannazza, G., Catani, M., Cavaliere, C., Cavazzini, A., Cerrato, A., Citti, C., Felletti, S., Montone Carmela, M., Piovesana, S., and Laganà, A. 2021. Recent applications of mass spectrometry for the characterization of *Cannabis* and hemp phytocannabinoids: From targeted to untargeted analysis. Journal of Chromatography A. 1655: 462492.
8. Chaohua, C., Gonggu, Z., Lining, Z., Chunsheng, G., Qing, T., Jianhua, C., Xinbo, G., Dingxiang, P., and Jianguang, S. 2016. A rapid shoot regeneration protocol from the cotyledons of hemp (*Cannabis sativa* L.). Ind Crops Prod. 83:61–65.
9. Dhikary, D., Kulkarni, M., El-Mezawy, A., Mobini, S., Elhiti, M., Gjuric, R., Ray, A., Polowick, P., Slaski, J.J., Jones, M.P., and Bhowmik, P. 2021. Medical *Cannabis* and industrial hemp tissue culture: Present Status and Future Potential. Front. Plant Sci. 12:627240.
10. Duggan Peter, J., Kassiou, M. 2021. *Cannabis* and Cannabinoids. Australian Journal of Chemistry. 74(6):367.
11. Elbatsh, M M., Moklas, M.A., Marsden, C.A., and Kendall, D.A. 2012. Antidepressant-like effects of delta (9) - tetrahydrocannabinol and rimonabant in the olfactory bulbectomised rat model of depress sion. Pharmacology Biochemist Behav. 102(2):357–365.
12. Fales, F.W. 1951. The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. Journal of Biological Chemistry. 193: 113-124.
13. Flajšman, M., Slapnik, M., and Murovec, J. 2021. Production of feminized seeds of high CBD *Cannabis sativa* L. by manipulation of sex expression and its application to breeding. Front. Plant Sci. 12:718092.
14. Ghasemi, A.S. 2009. Medicinal and aromatic herbs, recognition of their effects. Islamic Azad University of Shahr Kurd. pp: 255. 474-476. (Persian).
15. Gopi, R., Sridharon, R., Somasundaram, R., Alagulakshmanan, G.M., and Panneerselvam, R. 2005. Growth and photosynthetic characteristics as affected by triazols in *Amorphophallus campanulatus*. Gen Application Plant Physiology. 31: 171-180.
16. Haque, S., Farooqi, A.H.A., and Gupa, M. 2007. Effect of ethereal, chlormequat chloride and paclobutrazol on growth and pyrethrins accumulation in *chrysanthemum cinerariaefolium*. Plant Growth regulation. 51: 263-269.
17. Ivankov, A., Nauciene, Z., Zukiene, R., Degutyte-Fomins, L., Malakauskiene, A., Kraujalis, P., Venskutonis, P.R., Filatova, I., Lyushkevich, V., and Mildaziene, V. 2020. Changes in growth and production of non-psychotropic cannabinoids induced by pre-sowing treatment of hemp seeds with cold plasma, vacuum and electromagnetic field. Applied Sciences. 10(23): 8519.
18. Jalalvand, A., Andalibi, B., Tavakoli, A., and Moradi, P. 2017. Evaluation of the effect of cycocel and salicylic acid on some physiological characteristics and essential oils of *Dracocephalum moldavica* L. under normal and drought conditions. Journal of Plant Production Research. 24 (4): 111-128. (Persian).
19. Khalilzadeh, R., Seyed Sharifi, R., and Jalilian, J. 2016. Antioxidant status and physiological responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to cycocel application and bio fertilizers under water limitation condition. Journal of Plant Interaction. 11(1): 130-137.
20. Lipson Feder, C., Cohen, O., Shapira, A., Katzir, I., Peer, R., Guberman, O., Procaccia, S., Berman, P., Flaishman, M., and Meiri, D. 2021. Fertilization following pollination predominantly decreases phytocannabinoids accumulation and alters the accumulation of terpenoids in *Cannabis* inflorescences. Front. Plant Sci. 12: 753847.
21. Lubell, J.D., and Brand, M.H. 2018. Foliar sprays of silver thiosulfate produce male flowers on female hemp plants. HortTechnology hortte. 28(6): 743-747.
22. MacCallum, C.A., Russo, E.B. 2018. Practical considerations in medical

cannabis administration and dosing. Eur J Intern Med. 49:12–8.
23. Mansouri, H., and Asrar, Z. 2014. The effect of ABA on pigments and tetrahydrocannabinol in *Cannabis sativa* at flowering stage. Iranian Journal of Biology. 26(1): 82-89.
24. Mcphee, H.C. 1924. The influence of environment on sex in hemp, cannabis sativa. Journal of Agricultural Research. 11:1067-1080.
25. Miers, P., Hada, S., and Aharoni, N. 1992. Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid per oxidation products detected during parsley by a newly developed method. Journal of American Science Horticultural. 117: 128-132.
26. Mojadam, M., Sakinezhad, T., Shokoohfar, A., and Esmailipour, N. 2016. Effect of plant density and cycocel on quantitative characteristics and protein barley cultivar south. Crop Physiology Journal. 8(29): 121-135. (Persian).
27. Movahed Dehnavi, M., Ranjbar, M., Yidoui, A. and Kavousi, B. 2010. The effect of cycocel on the amount, soluble sugars, total protein, percentage of oil and fatty acids of flaxseed oil under drought stress conditions under cultivation conditions. Journal of Environmental Stresses in Crop Science. 3(2): 129-138. (Persian).
28. Ohlsson, A., Abou-Chaar, C.I., Agurell, S., Nilsson, I.M., Olofsson, K., Sandberg, F. 1971. Cannabinoid constituents of male and female *Cannabis sativa*. UN Bulletin on Narcotics. 23: 29-32.
29. Page, J.E., and Nagel, J. 2006. Biosynthesis of terpenophenolic metabolites in Hop and *Cannabis*. Journal Recent Adv Phytochemical. 40:179-210.
30. Pate, D.W. 1994. Chemical ecology of cannabis. Journal of the International Hemp Association. 29: 32-37.
31. Punja, Z.K., and Holmes, J.E. 2020. Hermaphroditism in Marijuana (*Cannabis sativa* L.) inflorescences - impact on floral morphology, seed formation, progeny sex ratios, and genetic variation. Front Plant Sci. 11:718.
32. Rossini-Pinto, A.C., Deleo-Rodrigues, T.D., Lient L.C., and Barbosa, I.C. 2005. Growth retardants on development and ornamental quality of potted 'Liliput' *Zinnia elegans* Jaco. Science Agricultural. 62: 337-345.
33. Sawan, M.Z. 2008. Effect of nitrogen fertilization and foliar application of plant growth retardants and zinc on cottonseed, protein and oil yields and oil properties of Cotton. Journal of Agricultural Crop Science. 186: 183-191.
34. Singh, B., and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedling under water stress. Plant Growth Regular. 39:137-14.
35. Somogy, M. 1952. Notes on sugar determination. Journal of Biological Chemistry. 195: 19-29.
36. Szynal, J., Gordon, D., and Rogowska, A. 2001. Accumulation of reducing sugars in the wheat and triticale seedlings after application of CCC, ethephen and calcium ions.Ann. Univ. Mariae Curie Skodowska Sectio-E Agril. 56: 125-200.
37. Taghinasab, M., and Jabaji, S. 2020. *Cannabis* microbiome and the role of endophytes in modulating the production of secondary metabolites: An Overview. Microorganisms. 8(3):355.
38. Welling, M.T., Deseo, M.A., Bacic, A., and Doblin, M.S. 2021. Untargeted metabolomic analyses reveal chemical complexity of dioecious *Cannabis* flowers. Australian Journal of Chemistry. 74(6) 463-479.
39. Youn-Ho, M., Yoon Jeong, Lee, Y.J., Cheol, S., K., Mok, H., Huh, Y.C., Chang, J.K., and Park, W.T. 2020. Effect of timing of ethephon treatment on the formation of female flowers and seeds from male plant of Hemp (*Cannabis sativa* L.). Korean Journal of Plant Resources. 33(6): 682–88.

Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 9th Year, Volume Three, Autumn 2021

Evaluation effect of Cycocel foliar application on active substance and some physicochemical characteristics of *Cannabis sativa*

Salehi Sardoei, A.[1*], Azad Ghojehbiglou, H.[2], Fattahi Siah Kamri, S.[3], Khazaei, I.[4]

[1]PhD student, Faculty of Agriculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2]MSc. Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran
[3]MSc. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[4]MSc, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

Received: 12-1-2019 Accepted: 31-5-2019

Abstract

Cannabis sativa L. is an ancient crop with medicinal and industrial applications that is cultivated to use its fibers and is also an effective painkiller. Cannabinoids are terpenophenolic compounds that have only been identified in cannabis genus. In the present study, the effect of cycocel on the amount of delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), the main cannabinoid of cannabis plant, in both male and female cannabis plants was evaluated as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications at greenhouse of Bahonar university of Kerman. The main factors included both genders of cannabis plant, male and female and different concentrations of cycocel (0, 500, 1000 and 1500 mg/l). THC was measured by liquid chromatography and UPLC, and total soluble proteins, total soluble sugars and malondialdehyde were analyzed using a spectrophotometer. The results were showed that with increasing cycocel concentration to 500 mg / l, the amount of tetrahydrocannabinol (THC) in the leaves and flowers of the female cannabis significantly increased. Comparing the interaction of genders and cycocel, it was found that the active ingredient of leaves in the female plants had a higher increase than the male plants up to a concentration of 1000 mg/l. The results also demonstrated that concentration of 1000 mg/l had the highest protein content in compare to other treatments in both male and female plants. The content in male gender was higher than the female base up to 1000 mg /l, but at the concentration of 1500 mg/l the female base was better. The lowest quantities of malondialdehyde and other aldehydes was observed in both genders treated with 1000 mg /l cycocel. Overall cycocel concentrations in compare to the control increased the soluble carbohydrates and reducing sugars. According to the obtained results, to achieve the maximum active ingredient of THC, application of 1000 mg/l cycocel in female gender is recommended.

Keywords: Active Ingredient, Cycocel, Cannabis sativa L, Reducing Sugars.

[*]Corresponding author; alisalehisardoei1987@gau.ac.ir