

تأثیر تنش شوری بر خصوصیات ریختی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پایه‌های نر و ماده شاهدانه (*Cannabis sativa* L.)

فاطمه بهشتی^۱، سارا خراسانی‌نژاد^{۲*} و خدایار همتی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناس ارشد گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- نویسنده و مسئول مکاتبات، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

پست الکترونیک: khorasaninejad@gau.ac.ir

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۱۴

چکیده

شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) یکی از مهمترین گیاهان دارویی دویا پیه است که در بیشتر کشورهای توسعه‌یافته دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. این آزمایش، با هدف مقایسه مقاومت به شوری در پایه‌های نر و ماده شاهدانه، به صورت آزمایش فاکتوریل براساس طرح کاملاً تصادفی انجام شد که تیمارهای تنش شوری در چهار سطح (۰، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌مولار) روی دو جنس نر و ماده با سه تکرار و در محیط گلخانه اجرا گردید. نتایج نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و جنس بر اجزای عملکرد گیاه، فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید کل، پرولین و قند کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. افزایش سطح شوری به طور معنی‌داری سبب کاهش ارتفاع گیاه، تعداد برگ، وزن تر و خشک گیاه در هر دو جنس گردید اما وزن ریشه، طول ریشه و تعداد گل عموماً در گیاه ماده افزایش پیدا کرد. همچنین افزایش سطح شوری به طور معنی‌داری سبب افزایش متابولیت‌های ثانویه از قبیل فنل، فلاونوئید، پرولین و قند در هر دو جنس نر و ماده شد. اما میزان آنتی‌اکسیدان با افزایش سطح شوری در جنس ماده افزایش و در جنس نر نسبت به شاهد کاهش نشان داد. نسبت سدیم به پتاسیم، به عنوان یک شاخص متحمل به شوری در نظر گرفته شد و بیشترین نسبت سدیم به پتاسیم در پایه‌های ماده در سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری به ترتیب در اندام هوایی و ریشه پایه ماده مشاهده شد. نتیجه گیری شد که گیاه ماده تا سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری را تحمل می‌کند و در این سطح شوری، عملکرد و تولید زی‌توده در جنس ماده از مقادیر بالاتری برخوردار است ولی در تیمارهای شوری بالاتر از سطح ۷۵ میلی‌مولار، گیاه ماده از لحاظ شوری حساس‌تر از گیاه نر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پتاسیم، پرولین، جنسیت، کلسم

مقدمه

شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) گیاهی یکساله، علفی و دوپایه متعلق به راسته *Urticales* و خانواده *Cannabaceae* است که ارتفاع آن به ۱ تا ۳ متر می‌رسد (Chandra *et al.*, 2017). شاهدانه گیاهی شگفت‌انگیز با قابلیت درمانی بالا برای طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها از جمله سردرد، سرطان، مولتیپل اسکلروزیس (MS)، آلزایمر، صرع، بیماران گوارشی و پوستی، روماتیسم و حتی در بهبود علائم نسبی ایدز استفاده می‌شود (Grassi & McPartland, 2017). در حال حاضر ۵۶۵ ماده تشکیل‌دهنده شاهدانه و ۱۲۰ فیتوکانابینوئید از شاهدانه شناسایی شده‌اند و مهمترین کانابینوئیدهای روان‌گردان کشف‌شده از شاهدانه Tetrahydrocannabinol (THC) و Cannabidiol (CBD) است (ElSohly *et al.*, 2017).

همان‌طور که مشخص است، شوری تهدید اصلی در تولید محصولات کشاورزی بوده و دارای تأثیر مضر روی گیاهان می‌باشد که در دو مرحله بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارد که عبارت است از مرحله اول (فاز اسمزی) و مرحله دوم (فاز یونی) و تأثیرات ویژه‌ای از قبیل کاهش فتوسنتز، بستن روزنه‌ها، پیری و سوختگی برگ، عدم تعادل مواد غذایی و قابلیت اسمزی کم را در پی خواهد داشت (Nadeem *et al.*, 2019). اثرهای زیان‌آور شوری بر فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان تأثیرگذار است، با توجه به نوع تنش رویکردها و راهبردهای مختلفی برای بهبود وضعیت اعمال می‌شود. انواع کشاورزی هیدروتکنیکی (حفظ خاک و آب، کاهش خاک‌ورزی، مالچ‌پاشی و ...)، بیولوژیکی (کشت گونه‌های مقاوم به نمک، چندکشتی، پیوند به پایه‌های مقاوم به شوری و ...)، شیمیایی (استفاده از مواد افزودنی و آلی، فیتوهورمون‌ها) و بیواکولوژیک (اصلاح نژادی، نمک‌زدایی، کاربرد محصولات مبتنی بر نانو، بیوپرایمینگ بذر) در برابر تنش شوری مؤثر هستند (Ondrasek *et al.*, 2022). عناصر ماکرو برای بعضی از فرایندهای فیزیولوژیکی از قبیل حفظ

قابلیت غشا و آماس، فعال‌سازی آنزیم، محرک روزنه‌ای و تنظیم فشار اسمزی ضروریست.

نسبت Na^+ / K^+ بالا در برگ‌ها بیشتر به‌عنوان یک نشانگر متحمل به شوری در نظر گرفته می‌شود. همچنین یون کلسیم با کنترل نفوذ یون سدیم از طریق کانال‌های غیرانتخابی، می‌تواند سبب کاهش سمیت ناشی از آن شود (Melgar *et al.*, 2006). شوری خاک بر بهره‌وری کشاورزی و حاصلخیزی خاک، فتوسنتز، تعرق گیاه و عملکرد ریشه تأثیر منفی می‌گذارد (Khataar *et al.*, 2018) و ریشه‌ها نقش کلیدی در تحمل شوری در گیاهان ایفا می‌کنند، زیرا این اندام با وجود تماس مستقیم با محیط شور، رشد آنها نسبت به محیط شور حساسیت کمتری دارد (Munns, 2002). در بیشتر موارد، تنش شوری ناشی از غلظت بالای یون سدیم و کلر در محلول خاک است که باعث ایجاد تنش اسمزی (hyperosmotic) می‌شود و از جذب آب و مواد غذایی از خاک توسط ریشه گیاه جلوگیری می‌کند. با این حال، بیشتر محصولات مانند برنج، گندم، گوجه‌فرنگی و بسیاری از گیاهان دیگر حساس به شوری (glycophyte) هستند و رشد و عملکرد آنها بیش از حد تحت تأثیر NaCl است (Xe *et al.*, 2022, Shah *et al.*, 2021).

سازوکارهای بسیار پیچیده‌ای برای پاسخ به تنش شوری وجود دارد، به طوری که فتوسنتز یکی از شدیدترین فرایندهای در معرض تنش شوری است که با اختلال در ساختار کلروپلاست و سنتز رنگدانه‌ها، فتوسنتز را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Manaa *et al.*, 2019). پرولین از دو ماده گلوتامات (glutamate) و اورنیتین (ornithine) تولید می‌شود. افزایش پرولین نقش کلیدی و مهمی در برقراری فشار اسمزی، حفاظت غشای سلولی و آنزیم‌های سیتوپلاسمی ناشی از آسیب‌های وارده دارد که از طریق جذب رادیکال‌های آزاد نقش خود را ایفا می‌کند و نقش مهمی در حفاظت در مقابل تنش شوری دارد (Bybordi, 2012). تنش‌های محیطی مانند تنش شوری،

شاهدانه بیان کردند که بیشتر ژن‌های *TPS* و *TPP* در تحمل استرس دخیل هستند و به‌طور خاص، *CsTPS1*، *CsTPS9* و *CsTPPA* توسط تنش‌های غیرزنده القا می‌شوند و نقش کلیدی در این تنش‌ها ایفا می‌کنند (Sun et al., 2022). در همین راستا، این پژوهش با هدف بررسی پاسخ پایه‌های ماده و نر نسبت به تنش شوری انجام شده تا به‌عنوان مطالعه مقدماتی به ارتباط جنسیت با مقاوت به تنش، به‌طور موردی پرداخته شود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش براساس آزمایش گلدانی بر مبنای فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمار شوری در چهار سطح و سه تکرار روی دو پایه شاهدانه در گلخانه انجام شد. سپس اندازه‌گیری صفات در آزمایشگاه فیزیولوژی گروه علوم باغبانی و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال ۱۳۹۷ انجام شد. بذره‌های مورد نیاز برای انجام این آزمایش از پاکان بذر اصفهان (*Cannabis sativa* جمعیت استان خراسان جنوبی) خریداری شد، سپس بذرها در سینی نشاء حاوی کوکوپیت و پرلیت کشت شدند، پس از گذشت یک هفته جوانه‌زنی بذر آغاز شد و پس از اینکه نشاءها به مرحله پنج تا شش برگی رسیدند آنها را به گلدان‌هایی (با دهانه ۲۵ سانتی‌متر) با بستر حاوی کوکوپیت و پرلیت به نسبت (۱ به ۱) انتقال داده شدند و در هر گلدان سه نشاء کشت شد. ابتدا برای استقرار گیاهان هر یک روز درمیان، از ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول غذایی هوگلند (5 mM KH₂PO₄, 1 mM KNO₃, 5 mM Ca(NO₃)₂, 2 mM MgSO₄, 46 μM H₃BO₃, 10 μM MnCl₂, 0.8 μM ZnSO₄, 0.4 μM CuSO₄, 0.14 μM MoO₃, 14 μM Fe-EDTA) استفاده شد (Zare et al., 2018; Khorasaninejad et al., 2016). پس از گذشت دو هفته و استقرار کامل گیاهان در گلخانه با دمای ۲۸ درجه در روز و ۱۶ درجه در شب، به محلول

باعث افزایش تولید انواع اکسیژن‌های فعال و افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شوند. این آزریم‌ها نقش بسیار حیاتی و مهم در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول گیاه دارند. با توجه به گونه گیاهی و شدت تنش، میزان فعالیت آنها در گیاه تغییر می‌کند (Gholinejad et al., 2015).

گیاهان دوپایه مؤلفه مهمی از اکوسیستم‌های گیاهی هستند که طبق بررسی محققان حدود هفت درصد از جنس‌های موجود در نهان‌دانگان و نزدیک به شش درصد گونه‌های گیاهان نهان‌دانه، دوپایه هستند. در این نوع گیاهان، معمولاً تفکیک جنسی دیده می‌شود، به‌طوری‌که گیاهان ماده هزینه تولیدمثل بالاتری داشته و مصرف بالاتری از مواد مغذی نیز دارند (Rrner & Ricklefs, 1995). در گیاهان دوپایه، در رشد و میزان تولید متابولیت‌های ثانویه، تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود. محققان بیان کرده‌اند که در گیاهان دوپایه، گیاهان نر در مبادلات فیزیولوژیکی منابع غذایی بیشتری را به دفاع و افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌ها اختصاص می‌دهند، در حالی که پایه ماده مواد غذایی را برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه اختصاص داده، از این‌رو رشد گیاه ماده کاهش می‌یابد (Massei et al., 2000) و گیاهان ماده نسبت به خشکسالی و سایر تنش‌ها حساسیت بیشتری از خود نشان می‌دهند (Chen et al., 2010). مطالعات مختلفی در مورد گیاهان دوپایه و تفاوت‌های جنسیتی در میزان رشد و غلظت متابولیت‌های ثانویه گزارش شده‌است که در بیشتر این مطالعات بیان شده‌است که گیاهان ماده نسبت به گیاهان نر منابع بیشتری را به تولید متابولیت‌های ثانویه اختصاص داده‌اند (Obeso, 2002).

شاهدانه دارای مقاومت خوبی در برابر خشکی و مقاوم در برابر حشرات است. ریشه‌های توسعه‌یافته آن از فرسایش خاک جلوگیری می‌کند و در مقایسه با سایر محصولات زراعی، نیاز آبی آن نیز نسبتاً کم است (Ander et al., 2016). محققان در پژوهشی روی ژن‌های خانواده *TPS* و *TPP*

غذایی NaCl تولید شرکت سیگما در چهار سطح (۰، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌مولار) اضافه شد. گیاهان نر و ماده با ربان‌های رنگی که به ساقه گیاه وصل شد از یکدیگر تفکیک شدند.

اندازه‌گیری اجزای عملکرد: پس از تکمیل رشد گیاه در مرحله گلدهی، بوته‌ها به‌طور کامل به همراه ریشه از گلدان‌ها خارج و با آب شسته شدند، سپس طول ریشه و اندام هوایی و نیز تعداد برگ و تعداد گل و طول میانگره و وزن تر اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک اندام‌هوائی و ریشه، آنها در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد (Khorasaninejad *et al.*, 2015).

تعداد و سطح برگ: برای اندازه‌گیری شاخص سطح برگ قبل از ظهر از هر تکرار یک گیاه به‌طور تصادفی انتخاب شد و سطح برگ آنها توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Delta T Device, Cambridge, UK) اندازه‌گیری و میانگین آنها محاسبه گردید. سطح برگ تولیدی در واحد سطح (سانتی‌متر مربع) اندازه‌گیری شد (Zarei *et al.*, 2020).

اندازه‌گیری نشت یونی برگ: در زمان رشد رویشی کامل گیاه قطعات یکسانی از سطح برگ گرفته، سپس با آب مقطر شستشو شد. مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آنها اضافه و ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و هدایت الکتریکی اولیه توسط دستگاه هدایت الکتریکی سنج (EC₁) اندازه‌گیری گردید. در نهایت نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و هدایت الکتریکی ثانویه (EC₂) آنها اندازه‌گیری شد (Sullivan & Ross, 1979). درصد نشت یونی (براساس هدایت الکتریکی) بر اساس رابطه (۱) محاسبه شد.

رابطه (۱) $EC = (EC_1/EC_2) \times 100$
اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ: محتوای آب معمولاً به صورت نسبی و به‌عنوان درصدی از آب در حال آماس کامل بیان می‌شود. برای اندازه‌گیری میزان RWC از قسمت وسط پهنک برگ استفاده شد، به این صورت که قطعاتی به یک اندازه از برگ در زمان رشد رویشی کامل گیاه جدا و با ترازوی دقیق آزمایشگاهی وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد قطعات برگ را در ظروف پتری در بسته در آب مقطر غوطه‌ور کرده و به مدت ۱۵ ساعت در شدت نور کم قرار داده شدند. با قرار دادن آنها بین دو لایه کاغذ صافی واتمن شماره یک به مدت حدود یک دقیقه خشک شده و وزن آماس آنها بلافاصله اندازه‌گیری شد. سپس قطعات برگ را در آون و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و پس از توزین، میزان RWC تیمارها با استفاده از رابطه (۲) اندازه‌گیری شد (McCaig & Romogosa, 1991).

رابطه (۲)

$$RWC = 100 \times [(وزن خشک - وزن تر) / (وزن خشک - وزن تر)]$$

اندازه‌گیری عناصر برگ و ریشه: بعد از گذاشتن نمونه‌ها (ریشه و اندام هوایی) جداگانه در کوره، در دمای ۵۵۰ درجه به مدت ۶ ساعت با کلرید سدیم غلیظ هضم شدند و از این عصاره مقدار کلسیم به‌روش تیتراسیون با EDTA به‌این‌صورت که ۵ میلی‌لیتر عصاره، ۵ میلی‌لیتر HCl، ۲ میلی‌لیتر سود ۴ نرمال و چند قطره معرف مورکساید (۰/۵ گرم مورکساید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) را باهم مخلوط کرده و با محلول ورسین (۴ گرم EDTA و ۰/۷۸ گرم کلرومنیزیم در یک لیتر آب مقطر) تیتراسیون می‌شود، در پایان میزان کلسیم با استفاده از رابطه (۳) به‌دست آمد. مقدار سدیم و پتاسیم با استفاده از فلیم‌فتومتر (مدل JENWAY انگلستان) اندازه‌گیری شد. مقدار کلر با روش تیتراسیون با نیترات‌نقره، به‌این‌صورت که یک گرم از برگ و ریشه خشک‌شده گیاه تهیه

زمانی که رنگ آجری تولیدشده تثبیت شد. سپس لوله‌ها بلافاصله در آب یخ قرار داده شدند تا واکنش‌ها سریعاً متوقف شود، به هر لوله دو میلی‌لیتر تولوئن افزوده شده و محتویات لوله به خوبی مخلوط گردید. پس از ۴۸ ساعت نگهداری در یخچال، از فاز تشکیل شده محلول قرمز رنگ بخش بالایی لوله آزمایش، نمونه برداری شد و میزان جذب محلول در طول موج ۵۲۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (Gorgini shabankareh *et al.*, 2021; Bates *et al.*, 1973).

اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوستنتزی: برای تعیین غلظت کلروفیل و کاروتنوئید از روش Barnes (۱۹۹۲) استفاده شد. ابتدا ۰/۵ گرم نمونه برگ تازه از هر تیمار آزمایشی در پنج میلی‌لیتر دی‌متیل‌سولفوکسید (DMSO) به مدت چهار ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شد. از نمونه حاصل ۲۵۰ میکرولیتر برداشته و دوباره دو میلی‌لیتر DMSO به آن اضافه شد. نمونه‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شده و از DMSO خالص به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد. اندازه‌گیری کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید به ترتیب در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۲۳، ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر انجام شد و اعداد بدست‌آمده در رابطه‌های زیر (۵، ۶، ۷ و ۸) جای‌گذاری شدند.

$$\text{Chlo a (mg/g.F.w)} = 12.7(A663) - 2.69(A645) \times V/1000 \times W \quad \text{رابطه (۵)}$$

$$\text{Chlo b (mg/g.F.w)} = 22.9(A645) - 4.68(A663) \times V/1000 \times W \quad \text{رابطه (۶)}$$

$$\text{Chlo total (mg/g.F.w)} = 20.2(A645) + 8.02(A663) \times V/1000 \times W \quad \text{رابطه (۷)}$$

$$\text{Car (mg/g.F.w)} = 7.6(A480) - 1.49(A510) \times V/1000 \times W \quad \text{رابطه (۸)}$$

که در این رابطه‌ها A: طول موج، V: حجم نهایی محلول و W: وزن نمونه است.

با ۱۰۰ میکرولیتر فولین‌سیوکالتیو و ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و بعد به آن ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم یک مولار اضافه شد. به مدت ۳۰ دقیقه در حمام بخار ۴۰ درجه

شد و در حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر جوشانده در داخل بشر ریخته و به آن ۲ تا ۳ قطره کرومات‌پتاسیم اضافه گردید که محلولی با رنگ نارنجی به دست می‌آید. بعد با نیترات‌نقره یک‌صدم نرمال تیتیر شده تا رنگ آن به قرمز آجری تغییر کند، در پایان میزان کلر با استفاده از رابطه (۴) به دست آمد (Chapman & Pratt, 1961).

$$\text{Ca} = (1000 \times a) / 5 \times 1 / 50 \quad \text{رابطه (۳)}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2 \quad \text{رابطه (۴)}$$

N1: نرمالیت غلظت کلر، V1: حجم عصاره معدنی، N2:

نرمالیت نیترات نقره مصرفی، a: حجم ورسین مصرفی

اندازه‌گیری پرولین برگ و ریشه: برای اندازه‌گیری میزان پرولین آزاد نیم گرم برگ و ریشه خشک گیاه توزین و در ظرف شیشه‌ای کوچکی ریخته و روی آن ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک سه درصد اضافه شد. پس از ۴۸ ساعت نمونه‌ها به کمک کاغذ صافی واتمن صاف گردیدند. از محلول‌های صاف شده برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد. یک میلی‌لیتر از محلول هر نمونه را به داخل یک لوله آزمایش ریخته و به آن یک میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و یک میلی‌لیتر اسیداستیک‌گلاسیال اضافه گردید. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا

اندازه‌گیری میزان فنل کل برگ و ریشه: برای اندازه‌گیری فنل کل از روش فولین-سیوکالتیو استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از عصاره متانولی برگ و ریشه در سه تکرار به‌طور جداگانه،

میلی لیتر عصاره متانولی قرار داده و برای بلانک از متانول خالص استفاده شد. بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. اعداد بدست آمده توسط رابطه (۹) به درصد مهار رادیکال آزاد تبدیل شد.
رابطه (۹)

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = [(Ac-As) / Ac] \times 100$$

در این رابطه As و Ac به ترتیب برابر با عدد جذب نمونه و کنترل است. اعداد بدست آمده برابر با درصد مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره متانولی نمونه‌ها می‌باشد (Wu et al., 2003).
اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین: یک گرم از نمونه برگ به ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (۹۹ میلی لیتر متانول خالص و ۱ میلی لیتر هیدروکلریک اسید) اضافه شد و عصاره برای ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (دمای یخچال) قرار داده شد و جذب محلول رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت میزان آنتوسیانین بر حسب میکرومول در گرم وزن تر بیان گردید. مقدار آنتوسیانین با استفاده از رابطه (۱۰) به دست آمد (Wagner, 1971).

$$\text{رابطه (۱۰)} \quad A = \varepsilon bc$$

ε : ضریب خاموشی برابر $1\text{-}3300\text{ mMcm}^{-1}$ ، A: مقدار جذب، b: عرض کوت، c: مقدار آنتوسیانین بر حسب مول بر گرم وزن تر گیاه.

اندازه‌گیری قند کل: برای اندازه‌گیری قند کل از روش آنترون استفاده گردید، بدین منظور ۱۰۰ میلی گرم از نمونه خشک شده با ۵ میلی لیتر اسیدکلریدریک ۲/۵ نرمال در حمام آب به مدت ۳ ساعت به منظور هیدرولیز جوشانده و بعد با کربنات سدیم خنثی شد. حجم آن به ۱۰۰ میلی لیتر افزایش داده شد و در ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی جدا شده و یک میلی لیتر برای آنالیز برداشته شد.

سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت. برای تهیه نمونه شاهد نیز به جای عصاره متانولی، تنها از متانول به عنوان حلال استفاده شد و بعد فولین سیوکالتیو و کربنات سدیم اضافه گردید. از این محلول برای کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO 2800 ساخت آمریکا) استفاده شد. میزان جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. با استفاده از غلظت‌های متفاوت استاندارد اسیدگالیک (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر) محلول اسیدگالیک در متانول منحنی کالیبراسیون به دست آمد. این مقدار برای یک گرم در لیتر محاسبه شد. فنل کل بر حسب میلی گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم ماده خشک بدست آمد (Oki et al., 2002).

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل برگ و ریشه: برای محاسبه فلاونوئید مقدار ۰/۵ میلی لیتر از عصاره متانولی برگ و ریشه در سه تکرار، به طور جداگانه در لوله آزمایش ریخته شد و به ترتیب به آن ۱/۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۱ میلی لیتر پتاسیم استات، ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی لیتر آلومینیم کلراید اضافه گردید. برای تهیه شاهد، متانول خالص جایگزین عصاره متانولی شد. محلول حاصل ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. میزان جذب نمونه‌ها در مقابل بلانک در طول موج ۴۱۵ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف محلول استاندارد کوئرستین (۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) استفاده شد. معادله خط بدست آمده برای تعیین میزان فلاونوئید در ۱۰۰ گرم ماده خشک استفاده گردید (Chang et al., 2012).

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ به روش DPPH: برای اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد به روش DPPH ابتدا یک میلی لیتر از عصاره آبی با یک میلی لیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی مولار مخلوط گردید. برای نمونه شاهد یک میلی لیتر متانول خالص به جای یک

بیشترین و کمترین طول ریشه با ۱۶/۶ و ۳۷ سانتی‌متر به ترتیب در گیاه ماده و نر مشاهده شد. بیشترین تعداد برگ در گیاه ماده با ۹۹/۳ و ۹۸/۶ عدد به ترتیب در تیمار شاهد و ۷۵ میلی‌مولار شوری (۴۳/۶ عدد) بدست آمد. در مقابل، کمترین تعداد برگ در گیاه نر با (۲۱ عدد) در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری به دست آمد. بیشترین تعداد گل در گیاه ماده در همه سطوح شوری و کمترین تعداد گل با میانگین ۱۳/۳ عدد در گیاه نر در تیمار ۷۵ میلی‌مولار شوری بدست آمد. بیشترین و کمترین وزن تر اندام‌هوایی با ۴۸/۹۳ و ۱۷/۳۷ گرم در بوته به ترتیب در گیاه ماده (شاهد) و گیاه نر در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به دست آمد. بیشترین و کمترین وزن تر ریشه با ۷/۹۶ و ۱/۰۵ گرم در بوته به ترتیب در گیاه ماده در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و گیاه نر در سطح شاهد شوری به دست آمد. بیشترین و کمترین سطح برگ با ۴۴/۷۶ و ۱۳/۷۰ سانتی‌متر مربع به ترتیب در گیاه ماده و نر در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین و کمترین درصد رطوبت نسبی برگ با ۷۱/۶۰ و ۲۵/۶۶ درصد به ترتیب در گیاه ماده در سطح ۵۰ میلی‌مولار شوری و گیاه نر در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به دست آمد. بیشترین و کمترین درصد نشت یونی با ۴۲/۱۶ و ۸/۴۶ درصد به ترتیب در گیاه ماده در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و گیاه نر در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری به دست آمد (جدول ۲).

تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی (جدول ۳) نشان داد که اثر اصلی شوری برای کلیه صفات به جز کلر برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر اصلی جنس گیاه برای صفات پتاسیم برگ و ریشه، کلر برگ و ریشه، نسبت سدیم/پتاسیم برگ و ریشه در سطح احتمال یک درصد و سدیم ریشه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل شوری در جنس گیاه برای صفات پتاسیم برگ و ریشه، سدیم برگ و ریشه و نسبت سدیم/پتاسیم برگ و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

۴ میلی‌لیتر معرف آنترون به آن افزوده و در بن‌ماری (۷۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت یک دقیقه گرم شد. سپس نمونه به سرعت سرد شد و رنگ آن از سبز به خاکستری تغییر یافت و جذب آن در ۶۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و بر اساس واحد میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد. برای تهیه نمونه استاندارد قند کل از محلول ساکارز با غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌گرم آب مقطر استفاده شد، سپس غلظت‌های مختلف (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر) از محلول استاندارد برداشته با آب مقطر به حجم ۲۰۰ میکرولیتر رسانده و ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون به لوله‌های آزمایش اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت شد (Thimmaiah, 2004).

تحلیل آماری: تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS ورژن ۹/۲ و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورفولوژی

نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژی (جدول ۱) نشان داد که اثر اصلی شوری برای صفات ارتفاع گیاه، تعداد برگ، وزن تر و خشک گیاه، وزن تر و خشک ریشه، رطوبت نسبی برگ و نشت یونی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. به همین ترتیب اثر جنس گیاه و اثر متقابل شوری در جنس گیاه برای کلیه صفات بجز وزن خشک ریشه و طول میانگره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دو تیمار روی اجزاء عملکرد گیاه (جدول ۲) نشان داد که بیشترین و کمترین ارتفاع گیاه در گیاه نر با ۱۲۵ و ۷۶ سانتی‌متر به ترتیب در تیمار شاهد و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد. در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار،

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس تأثیر شوری و جنس بر شاخص‌های فیزیولوژی شاهدانه

Table 1. Analysis of variance of the effect of salinity and sex on physiological characteristics of cannabis

منبع تغییرات	S.O.V	درجه آزادی	MS											
			ارتفاع گیاه	طول ریشه	طول میانگره	تعداد برگ	تعداد گل	وزن تر گیاه	وزن تر ریشه	وزن خشک گیاه	وزن خشک ریشه	سطح برگ	رطوبت نسبی برگ	نشت یونی
		df	Plant height	Root length	Internode length	Leaves Number	Flowers Number	Plant F weight	Root F weight	Plant dry weight	Root dry weight	Leaf area	RWC	Electrolyte leakage
شوری	Salt	3	1134.48**	22.94 ^{ns}	27.48 ^{ns}	2856.72**	54.37 ^{ns}	236.74**	18.39**	21.21**	2.29**	53.69 ^{ns}	114.95**	154.62**
جنس	Sex	1	210.04 ^{ns}	228.16**	57.04 ^{ns}	6868.16**	4982.04**	569.10**	26.79**	16.82**	0.26 ^{ns}	901.6**	6944.5**	2742.6**
شوری×جنس	S×S	3	556.15**	139.61**	25.59 ^{ns}	1195.61**	202.26**	376.23**	7.43**	4.03*	0.77 ^{ns}	244.13**	55.2*	72.12**
خطا	error	16	72.75	8.41	15.16	62.58	21.12	10.75	0.6	1.19	0.31	17.04	13.93	10.03
	C.V		8.63	11.72	24.4	15.28	12.24	10.97	15.87	19.12	34.88	13.96	8.42	13.42

^{ns}: بیان‌کننده معنی‌دار نبودن است. * و **: به ترتیب بیان‌کننده معنی‌داری در سطح احتمال P≤۰/۰۵ و P≤۰/۰۱ هستند.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر شوری و جنس بر خصوصیات مورفولوژی گیاه شاهدانه

Table 2. Comparison of the mean effect of salinity and sex on morphological characteristics of cannabis

Salt شوری	جنس	Sex	ارتفاع گیاه	طول ریشه	تعداد برگ	تعداد گل	وزن تر گیاه	وزن تر ریشه	وزن خشک گیاه	سطح برگ	رطوبت نسبی برگ	نشت یونی
			Plant height	Root length	Leaves number	Flowers number	Plant fresh weight(g)	Root fresh weight(g)	Plant dry weight(g)	Leaf area (cm ²)	RWC (%)	Electrolyte Leakage%
شاهد	نر	Male	125a	21.6bc	38.0bc	19.6cd	19.28e	1.05 f	4.43bc	13.70d	27.62c	13.58de
0mM	ماده	Female	103.3abc	24.6b	99.3a	53.6a	48.93a	2.23ef	7.66a	44.76 a	58.44b	29.75b
۵۰ میلی‌مولار	نر	Male	113.3ab	21.6bc	36.6bc	33.3b	29.21cd	4.05c-e	3.04c	31.79bc	29.60c	8.46e
50mM	ماده	Female	90.0cd	24.3b	45.0b	47.0a	21.16de	3.21de	4.71bc	34.83ab	71.60a	26.38bc
۷۵ میلی‌مولار	نر	Male	92.0b-d	26.6b	43.6b	13.3d	34.20bc	5.68bc	8.63a	21.57cd	26.37c	18.89cd
75mM	ماده	Female	105a-c	25.3b	98.6a	54.0a	38.57b	7.37ab	7.79a	30.43bc	54.47b	38.80a
۱۰۰ میلی‌مولار	نر	Male	76.0d	16.6c	21.0c	26.6bc	17.37e	4.55cd	3.46bc	26.65bc	25.66c	10.64e
100mM	ماده	Female	85.0cd	37.0a	31.6bc	52.6a	30.36bc	7.96a	6.09ab	32.72b	60.82b	42.16a

Means with the similar alphabet have no significant difference in 5% probability level. میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال اشتباه پنج درصد ندارند.

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس تأثیر شوری و جنس بر شاخص‌های فیزیولوژیکی شاهدانه

Table 3. Analysis of variance of the effect of salinity and sex on physiological characteristics of cannabis

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	MS									
		K ⁺ پتاسیم		Na ⁺ سدیم		Ca ⁺⁺ کلسیم		Cl ⁻ کلر		Na ⁺ /K ⁺ پتاسیم/سدیم	
		برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root
Salt شوری	3	259.98**	19.58**	24.26**	76.25**	357**	62.48*	0.33 ^{ns}	5.07**	0.47**	2.22**
Sex جنس	1	1193.98**	1640.60**	1.46 ^{ns}	10.52*	22.8 ^{ns}	5.555 ^{ns}	22.89**	15.92**	1.69**	70.25**
شوری × جنس Salt × Sex	3	106.89**	39.48**	7.87**	59.99**	13.37 ^{ns}	39.06 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.05**	3.52**
Error خطا	16	3.89	1.95	0.82	1.91	6.46	14.24	0.28	0.1	0.005	0.008
ضریب تغییرات C.V		8.38	9.16	4.72	4.42	7.61	36.01	11.16	8.32	7.45	2.97

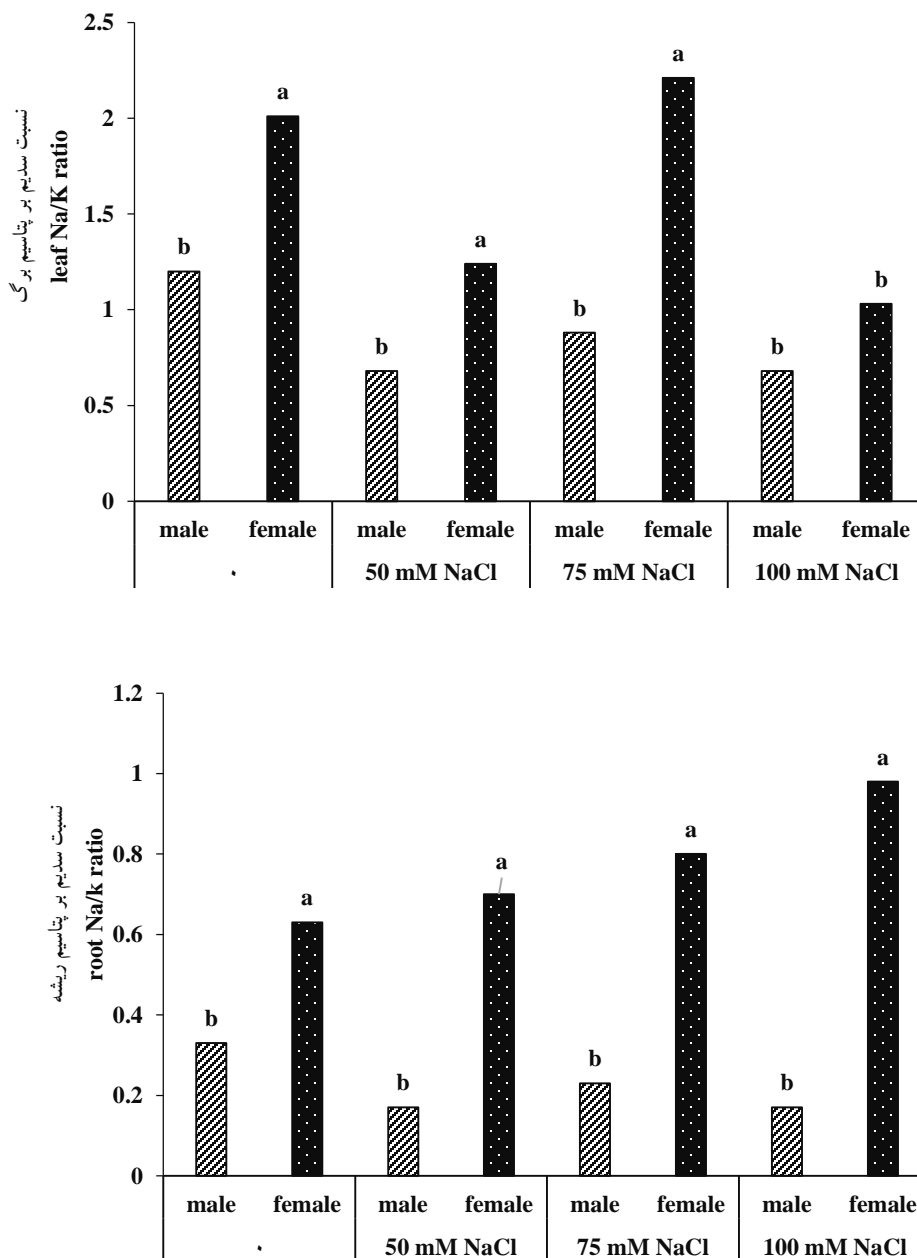
ns: عدم اختلاف معنی‌دار؛ * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال اشتباه ۵ و ۱ درصد

ns=non-significant difference; * and ** significant difference in 5 and 1% probability level, respectively.

در شکل ۱ مشخص است نسبت سدیم به پتاسیم برگ در سطح شاهد در گیاه ماده یک و نیم برابر گیاه نر و در سطح ۲۵ میلی‌مولار شوری ۱/۸ برابر و در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری ۲/۵ برابر و در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری ۱/۵ برابر افزایش در گیاه ماده نسبت به گیاه نر است. همچنین نسبت سدیم به پتاسیم ریشه در گیاهان ماده در سطح شاهد ۱/۹ برابر و در سطح ۲۵ میلی‌مولار شوری ۴ برابر و در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری ۳/۴ برابر و در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری ۵/۷ برابر افزایش نسبت به گیاهان نر است (شکل ۱).

مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی

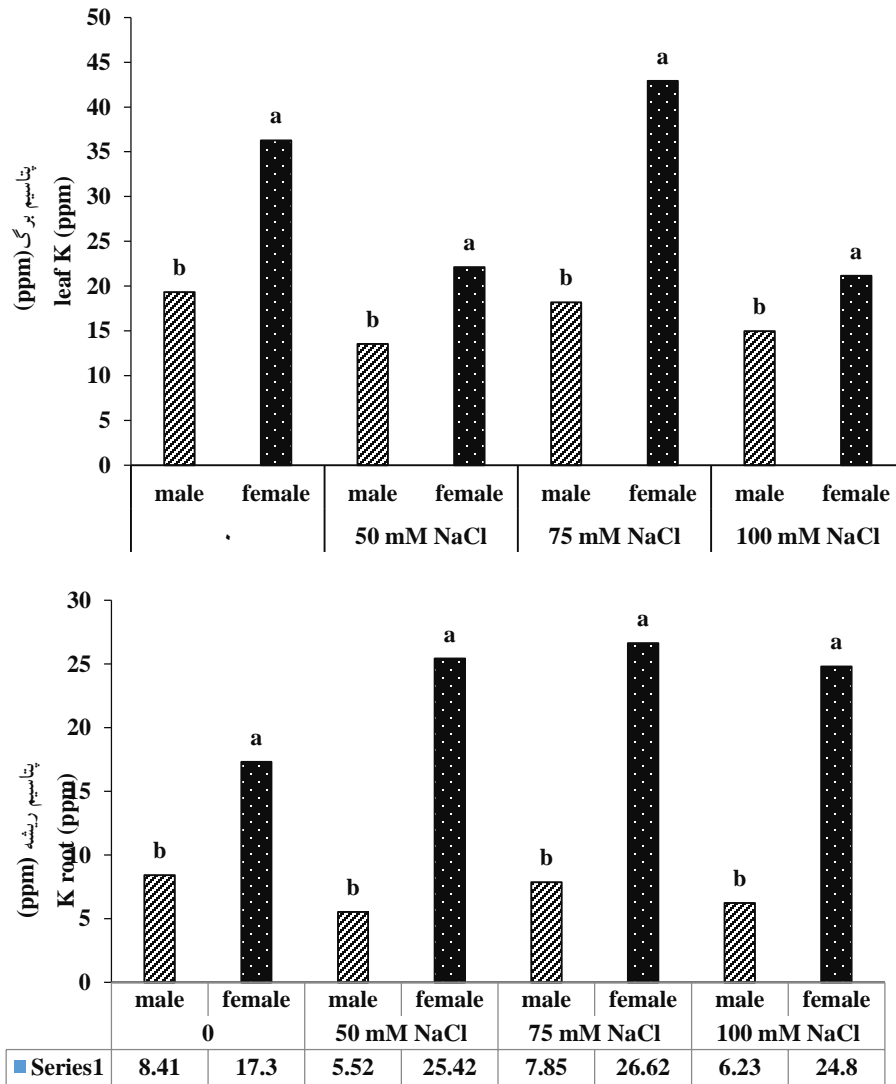
نتایج برش‌دهی اثر متقابل دو تیمار بر روی عناصر (شکل ۱ تا ۳) نشان داد که بیشترین (۶ ppm) میزان پتاسیم برگ و ریشه را گیاه ماده و کمترین (۱/۵ ppm) میزان پتاسیم را گیاه نر داشت. میزان سدیم برگ و ریشه در سطح شاهد شوری در گیاه ماده بیشتر از گیاه نر بود، اما با افزایش شوری میزان سدیم برگ در گیاه نر افزایش یافت. همچنین بیشترین نسبت سدیم به پتاسیم برگ و ریشه در گیاه ماده در تمام سطوح شوری مشاهده شد و کمترین نسبت سدیم به پتاسیم را گیاه نر در تمام سطوح شور نشان داد. همان‌طور که



شکل ۱. برش‌دهی اثر متقابل شوری و جنس بر نسبت سدیم به پتاسیم برگ و ریشه شاهدانه

Figure 1. Cutting off the interaction of salinity and sex on the sodium to potassium content leaf and root of cannabis
Means with the similar alphabet have no significant difference in 5% میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪

ندارند.



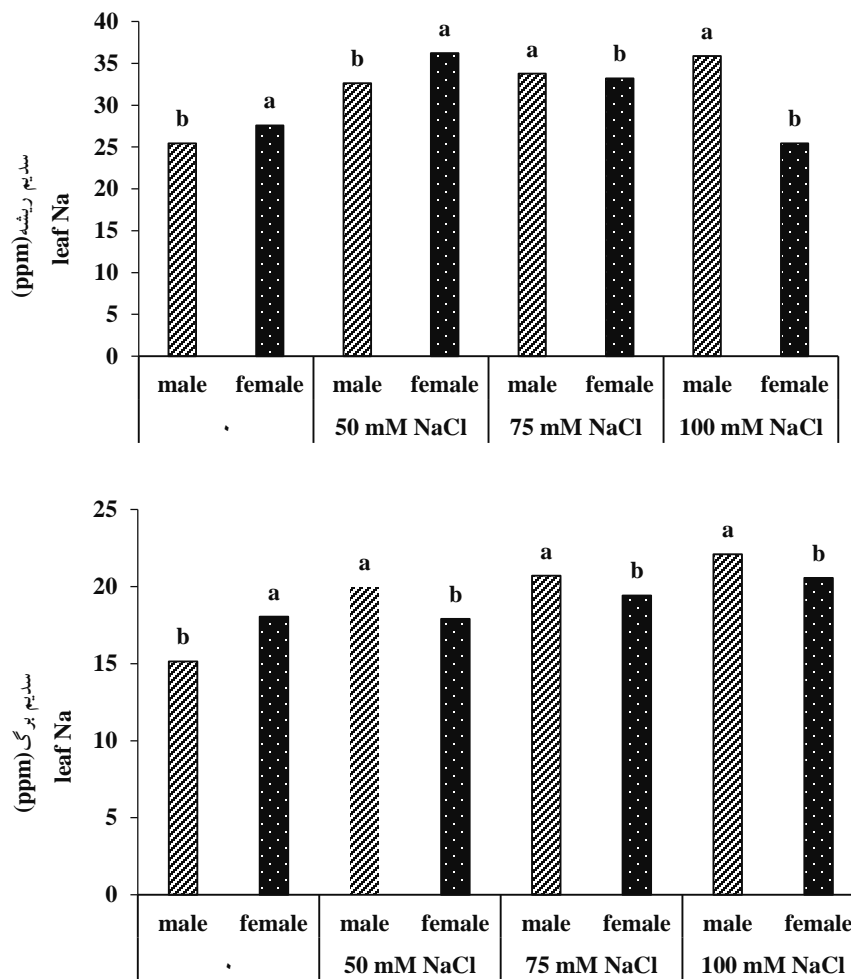
شکل ۲. برش‌دهی اثر متقابل شوری و جنس بر میزان پتاسیم برگ و ریشه شاهدانه

Figure 2. Cutting off the interaction of salinity and sex on the potassium content leaf and root of cannabis

Means with the similar alphabet have no significant difference in 5%

میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪

ندارند.



شکل ۳. برش‌دهی اثر متقابل شوری و جنس بر میزان سدیم برگ و ریشه شاهدانه

Figure 3. Cutting off the interaction of salinity and sex on the sodium content leaf and root of cannabis
 Means with the similar alphabet have no significant difference in 5%

میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪

ندارند.

برگ در پایه نر (۴۲/۸۳ میلی‌گرم بر گرم) و ماده (۴۱/۱۸ میلی‌گرم بر گرم) در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری و کمترین میزان فنل کل برگ در پایه نر (۲۳/۵۵ میلی‌گرم بر گرم) و ماده (۲۵/۳۱ میلی‌گرم بر گرم) در سطح شاهد مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان فنل کل ریشه (۱۰/۴۱ میلی‌گرم بر گرم) در پایه نر در سطح ۵۰ میلی‌مولار شوری و کمترین میزان فنل کل ریشه (۶/۸ میلی‌گرم بر گرم) در پایه ماده در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید کل ریشه (۲/۷۴ میلی‌گرم بر گرم) در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری در پایه ماده و کمترین میزان فلاونوئید کل ریشه (۱/۵ میلی‌گرم بر گرم) در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری در پایه نر شوری مشاهده شد (جدول ۵). بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ با ۵۱/۴ و ۱۶/۵۸ درصد به ترتیب در پایه نر و پایه ماده در شوری سطح ۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریشه با ۷۱/۹۲ و ۳۷/۰۹ درصد به ترتیب در پایه ماده و نر در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد. بیشترین میزان آنتوسیانین به ترتیب با دامنه ۰/۵۱ تا ۰/۷۵ میلی‌گرم بر گرم در پایه نر و کمترین میزان آنتوسیانین در پایه ماده با ۰/۱۱ میلی‌گرم بر گرم در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان فنل کل با (۳/۰۹ و ۱/۵۷ میلی‌گرم بر گرم) به ترتیب در پایه نر در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری و پایه ماده در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری مشاهده شد.

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی شاهدانه

نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی (جدول ۴) نشان داد که اثر اصلی شوری برای کلیه صفات به جز قند کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر اصلی جنس گیاه برای کلیه صفات به جز پرولین برگ در سطح احتمال یک درصد و قند کل در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل شوری در جنس گیاه برای کلیه صفات به جز رنگدانه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دو تیمار بر روی میزان پرولین برگ و ریشه (جدول ۵) نشان داد که بیشترین میزان پرولین برگ در پایه نر (۲۸/۹ میلی‌گرم بر گرم) و ماده (۲۷/۳۷ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار شوری و کمترین میزان پرولین برگ در پایه نر (۱۱/۹۴ میلی‌گرم بر گرم) و ماده (۸/۹ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان پرولین ریشه در پایه ماده (۴۹/۶۴ میلی‌گرم بر گرم) در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری و کمترین (۱۵/۹۹ میلی‌گرم بر گرم) میزان پرولین ریشه در پایه نر در سطح ۵۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد.

نتایج مقایسه میانگین اثر ساده شوری (شکل ۴) بر رنگدانه‌های فتوسنتزی نشان داد که میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه ماده حدوداً ۱/۵ برابر بیشتر از گیاه نر است و تنش شوری باعث کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شود. نتایج مقایسه میانگین اثرهای متقابل دو تیمار بر میزان فنل کل برگ و ریشه (جدول ۵) نشان داد که بیشترین میزان فنل کل

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس تأثیر شوری و جنس بر شاخص‌های بیوشیمیایی شاهدانه

Table 4. Results of analysis of variance of the effect of salinity and sex on the biochemical parameters of cannabis

S.O.V	درجه آزادی df	MS													
		آنتی‌اکسیدان Antioxidant		فلاونوئید کل T flavonoid		فنل کل T Phenol		پرولین Prolin		کلروفیل a+b	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	آنتوسیانین	قند کل
		برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root	Chl.ab	Chl.a	Chl.b	Carotenoid	Anthocyanin	Carbohydrates
Salt شوری	3	134.3**	158.3**	17.09**	0.43**	333.07**	4.68**	318.73**	393.18**	0.62**	0.37**	0.03**	0.04**	0.12**	0.61 ^{ns}
sex جنس	1	1508.2**	2029.7**	127.1**	1.28**	116.9**	13.72**	6.60 ^{ns}	1289.6**	2.23**	1.4**	0.1**	0.33**	0.32**	1.72*
S×S شوری × جنس	3	553.89**	225.7**	5.04**	0.07**	45.01**	2.36**	31.78**	28.93**	0.03 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.10**	1.19**
error خطا	16	2.59	8.57	0.15	0.009	6.08	0.09	2.61	5.08	0.01	0.007	0.001	0.001	0.001	0.21
C.V ضریب تغییرات		4.66	4.59	2.1	4.66	7.31	3.74	8.07	7.88	7.63	7.35	11.26	6.8	6.41	20.8

^{ns}: عدم اختلاف معنی‌دار؛ * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال اشتباه ۵ و ۱ درصد. ns=non-significant difference; * and ** significant difference in 5 and 1% probability level, respectively.

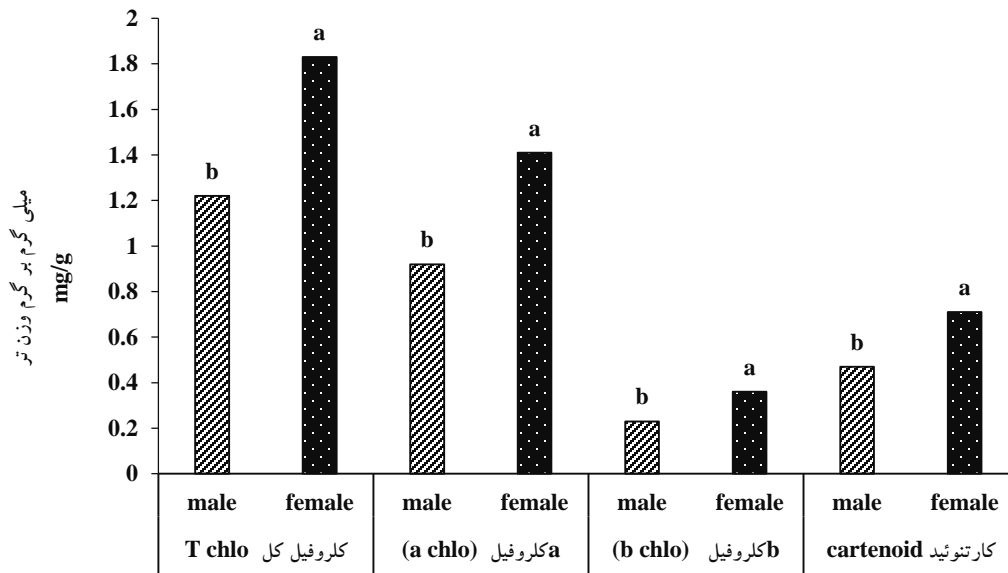
جدول ۵. مقایسه میانگین اثر شوری و جنس بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه شاهدانه

Table 5. Comparison of the mean effect of salinity and sex on biochemical properties of cannabis

شوری Salt	جنس sex	sex	آنتی‌اکسیدان Antioxidant (%)		فلاونوئید کل T Flavonoid (mg/g)		فنل کل T Phenol (mg/g)		پرولین Prolin (mg/g)		آنتوسیانین برگ Leaf	قند کل برگ Leaf
			برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root	برگ leaf	ریشه root	Anthocyanin (μmol/g)	Carbohydrates (mg/g)
			شاهد 0mM	نر ماده	Male Female	41.73 ^{bc}	44.81 ^d	23.55 ^c	1.78 ^e	23.55 ^c	8.88 ^{bc}	11.94 ^e
۵۰ میلی‌مولار 50mM	نر ماده	Male Female	51.40 ^a	60.3 ^{bc}	26.44 ^c	2.04 ^{b-d}	26.44 ^c	10.41 ^a	20.42 ^{cd}	15.99 ^e	0.71 ^a	3.05 ^a
۷۵ میلی‌مولار 75mM	نر ماده	Male Female	35.87 ^d	57.49 ^c	42.83 ^a	1.50 ^f	42.83 ^a	9.65 ^b	16.71 ^d	20.42 ^{de}	0.70 ^a	2.10 ^{ab}
۱۰۰ میلی‌مولار 100mM	نر ماده	Male Female	40.80 ^c	37.09 ^e	33.23 ^b	2.02 ^{c-e}	33.23 ^b	7.40 ^{de}	28.90 ^a	30.13 ^c	0.51 ^b	3.09 ^a
			27.10 ^e	71.92 ^a	39.99 ^a	2.74 ^a	39.99 ^a	6.80 ^e	27.37 ^{ab}	49.64 ^a	0.41 ^c	2.02 ^{ab}

Means with the similar alphabet have no significant difference in 5%

میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ ندارند.



شکل ۴. نمودار اثر پایه نر و ماده بر رنگیزه‌های فتوسنتزی

Figure 4. Diagram of the simple effect of sex on photosynthetic pigments

Means with the similar alphabet have no significant difference in 5%

میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

بحث

شاهد جنس نر ارتفاع بیشتری دارد و چون منابع خود را بیشتر صرف رشد می‌کند کمتر دچار آسیب می‌شود و تا سطحی از شوری مقاومت بیشتری داشت. همچنین مشاهده شده است که طول ریشه با افزایش شوری در گیاه نر کاهش و در گیاه ماده افزایش یافت. در واقع هنگامی که جذب آب کم شد، اولین فرایندی که تحت تأثیر قرار می‌گیرد توسعه برگ است و ممانعت در توسعه سطح برگ باعث کاهش در مصرف کربوهیدرات‌ها و انرژی شده و بخش بیشتری از مواد فتوسنتز تولید شده، می‌تواند به سمت ریشه‌ها هدایت شود و ریشه بیشتر رشد کند (Gupta *et al.*, 2022). همچنین کاهش سطح برگ با افزایش شوری در گیاه ماده مشهود است اما گیاه نر سطح برگ افزایش می‌یابد. تنش شوری با اختلال در فتوسنتز، تبادل گازی برگ و رشد رویشی و زایشی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای رشد و نمو گونه‌های کاهو را کاهش داد؛

در گیاهان، تنش شوری یک عامل حیاتی است که به شدت بر رشد و متابولیسم گیاه تأثیر می‌گذارد. شوری شامل سازوکارها و متغیرهای گوناگونی است که به مسیرهای متابولیک مختلف مربوط می‌شود. در این مطالعه چندین پارامتر برای ارزیابی تحمل به تنش شوری در دو جنس نر و ماده شاهدانه بررسی شد. رشد به‌عنوان نتیجه سازوکارهای فیزیولوژیکی متفاوت در نظر گرفته شده است که کاهش چشمگیر آن بعد از تیمار شوری و پایان فصل رشد مشهود بود (Munns, 2002). محققان بیان کردند که در گیاهان دوپایه، گیاهان نر در مبادلات فیزیولوژیکی بین رشد و دفاع، منابع بیشتری را به رشد و گیاهان ماده به غلظت بالای متابولیت‌های ثانویه اختصاص می‌دهند، از این رو رشد گیاه ماده کاهش می‌یابد (Massei *et al.*, 2000). در این پژوهش نیز تیمار

با وجود این کاهو با تجمع اسمولیت‌های آلی و معدنی، حذف کارآمد Na^+ و توانایی نگهداری بهتر K^+ می‌تواند تنش شوری را تحمل کند (Shahzad et al., 2022). حفظ نسبت بالای پتاسیم به سدیم با دفع سدیم از سیتوزول به داخل واکوئل برای محدود کردن زوال سلول یک سازوکار انطباقی برای هموستاز سیتوزولی پتاسیم، استقرار و بقای بهتر محصول و جذب مؤثر CO_2 تحت شرایط شوری است (Yu et al., 2020). زمانی که خاک حاوی نمک از نظر میزان پتاسیم فقیر باشد، محتوای بالای سدیم باعث محدودیت جذب پتاسیم توسط سلول‌های ریشه می‌شود و باعث تغییر در قطبیت غشا می‌گردد و از جذب پتاسیم از طریق کانال‌های کاتیونی جلوگیری می‌کند. بنابراین تغذیه کافی پتاسیم باعث فعال‌سازی پمپ‌های HATPase برای افزایش جذب پروتون‌ها در شرایط تنش‌های غیرزیستی می‌شود (Weng et al., 2020). در بررسی اثر تنش شوری بر پاسخ‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی هشت گونه اکالیپتوس (*Eucalyptus*) نتایج نشان داده که شوری باعث تأخیر و مهار رشد نهال‌ها پس از یک ماه و کاهش تدریجی برخی از صفات از قبیل سطح برگ، محتوای نسبی آب برگ و کاهش معنی‌داری در رنگیزه‌های فتوسنتزی شد (Shariat et al., 2017). در بررسی اثر تنش‌های محیطی روی پسته، نتایج نشان داد که پایه ماده نسبت به پایه نر در ارتفاع، قطر تاج و حجم تاج بیشتر تحت تأثیر عوامل تنش‌زا قرار گرفت (Ghadirzade et al., 2022). مطالعات متعددی نشان داده‌است که گیاهان نر و ماده در پاسخ فیزیولوژیکی به تنش، واکنش‌های متفاوتی دارند. نرها معمولاً تحمل به تنش بیشتری نسبت به ماده‌ها دارند، علاوه‌براین ماده‌ها نسبت به تنش اکسیداتیو حساسیت بیشتری نشان می‌دهند و این موضوع باعث آسیب به سیستم فتوسنتزی و تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌گردد (Zhang et al., 2012). مطالعات نشان داد که کاهش سطوح فتوسنتزکننده و مصرف بیش از حد انرژی برای کاهش اثرهای شوری در اثر افزایش غلظت NaCl برای

برقراری تعادل یونی و اسمزی به منظور جلوگیری از سمیت یون‌ها و حفظ آماس سلولی از علل عمده کاهش عملکرد ماده خشک سیاهدانه (*Nigella sativa*) است (Safarnejad et al., 2007). در این مطالعه میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی بدون اثر تنش در گیاه ماده بیشتر است، زیرا میزان توانمندی آنتی‌اکسیدانی در گیاه ماده بیشتر است، بنابراین از تخریب بیشتر رنگیزه‌ها جلوگیری می‌کند. البته تنش شوری هم به‌تنهایی باعث کاهش رنگیزه‌ها شده‌است، هرچند میزان کارتنوئید تا سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری در بیشترین حد خود بود اما بعد از آن کاهش یافت. زیرا نقش حیاتی کارتنوئید به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر در جلوگیری از تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی به اثبات رسیده‌است. محتوای نسبی آب برگ به‌طور مستقیم نشان‌دهنده وضعیت آب در گیاهان و کاهش آن است (Jiang et al., 2014). پژوهشگران طی مطالعاتی به‌منظور مقاومت به شوری بر روی سه گونه اکالیپتوس (*Eucalyptus*) بیان داشتند که افزایش تنش شوری منجر به افزایش سطح پرولین، میزان قند محلول، کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و پارامترهای رشدی شد (Tavakoli et al., 2016). محققان در مطالعه‌ای درباره اثر تنش‌های محیطی بر روی گیاه دوپایه تاج خروس، بیان کردند که محتوای کلروفیل بین پایه نر و ماده تفاوت داشت و نسبت کلروفیل a به b در شدت نور بالا در گیاهان نر بیشتر از گیاهان ماده بود (Korres et al., 2022). در این پژوهش محتوای نسبی آب برگ با افزایش شوری در گیاه نر کاهش یافت اما در گیاه ماده افزایش پیدا کرد. نمک‌های محلول در منطقه رشد ریشه، ظرفیت اسمزی پایین‌تری را ایجاد می‌کنند که این موضوع باعث کاهش ظرفیت آب خاک می‌شود و تعادل کلی آب در گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از آن جایی که گیاه ماده طول ریشه بیشتری داشت در نتیجه به حفظ تعادل آبی کمک کرده‌است. یون سدیم و پتاسیم نقش حیاتی در رشد و نمو گیاهان عالی تحت تنش نمکی دارند و بیشتر با

رادیکال‌های آزاد می‌گردد که این رادیکال‌ها با پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و اختلال در نفوذپذیری غشاء باعث پاره شدن غشای سلول و افزایش نشت یونی به بیرون از سلول می‌شود (Molahoseini *et al.*, 2018). در این مطالعه میزان نشت یونی با افزایش شوری در گیاه نر کاهش و در گیاه ماده افزایش نشان داد. در پاسخ به تنش‌های غیرزنده مانند شوری، ترکیبات فنلی سنتز و تجمع می‌یابند و گیاه را در برابر گونه‌های اکسیژن فعال محافظت می‌کنند (Bettaieb *et al.*, 2011). پژوهشگران در مطالعه‌ای نشان دادند که محتویات فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌های مریم‌گلی ایرانی (*Salvia officinalis*) تحت تنش شوری خفیف (شوری ۶/۸ دسی‌متر) افزایش یافت (Valifard *et al.*, 2014). در این پژوهش با افزایش شوری میزان ترکیبات فنلی در گیاه نر و ماده افزایش یافت. افزایش مقدار قندهای کل گیاه در این پژوهش، می‌تواند به علت تولید قندهای محلول برای مقابله با تنش شوری باشد. کربوهیدرات‌هایی مانند گلوکز، فروکتوز و ساکارز در تنش شوری تجمع می‌یابند. عمل مهم آنها محافظت اسمزی، فشار اسمزی، ذخیره کربن و جارو کردن رادیکال‌ها است (Shaki *et al.*, 2018). در پژوهشی Asghari (۲۰۱۸) بیان کرد که کاهش در میزان قندهای محلول و نشاسته بیشتر در برگ درختانی که برای چندین سال در معرض تنش شوری بوده‌اند و تنش به صورت بلندمدت بر آنها اعمال شده بود مشاهده شده است (Asghari, 2018). بنابراین تمام گیاهان در شرایط شوری تجمع قند ندارند (Jin *et al.*, 2009).

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش نشان داد که تفاوت‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک بین دو جنس نر و ماده گیاه شاهدانه با افزایش تنش شوری افزایش یافت. نتایج نشان داد که گیاه ماده تا سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری متحمل اما بعد از آن سطح

کمبود پتاسیم همراه هستند. سدیم در غلظت بالا می‌تواند در غشای پلاسمایی جایگزین کلسیم شود که در اثر جایگزینی قابلیت نفوذپذیری غشا تغییر یافته و باعث نشت پتاسیم از سلول می‌شود (Parida & Das 2005). در این پژوهش مشاهده شده که با افزایش شوری میزان سدیم برگ در گیاه نر و ماده افزایش داشته و در مقابل میزان پتاسیم برگ در گیاه نر و ماده کاهش یافت. در واقع سدیم باعث برهم خوردن تعادل بین یون‌ها شده و با ممانعت از جذب پتاسیم مورد نیاز، وضعیت تغذیه‌ای گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و با بالا رفتن سدیم و کلر در کلروپلاست برگ فتوسنتز متوقف می‌شود.

یکی از سازوکارهای تحمل به تنش تجمع پرولین است. پرولین با مهار ROSها، DNA، پروتئین و غشا را تثبیت می‌کند و از تخریب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برابر تنش سدیم‌کلرید محافظت می‌کند (Kaur & Asthir, 2015). در این پژوهش با افزایش شوری میزان پرولین برگ و ریشه در گیاه نر و ماده افزایش نشان داد. میزان تجمع پرولین در هنگام وقوع تنش با بسیاری از گونه‌های گیاهی متحمل به تنش همبستگی مثبت داشته است، به طوری که غلظت پرولین در گیاهان متحمل نسبت به گیاهان حساس بیشتر بود. در پژوهشی ثابت شد که غلظت پرولین در ریشه یونجه (*Medicago sativa*) متحمل به شوری در هنگام تنش به سرعت نسبت به گیاه حساس به شوری افزایش می‌یابد (Ashraf & Foolad, 2007). در این مطالعه مشهود است که میزان غلظت پرولین برگ گیاه نر بیشتر از گیاه ماده است و این به منزله این است که گیاه نر متحمل‌تر به تنش نسبت به گیاه ماده می‌باشد. همچنین تجمع پرولین از روش‌های متابولیسمی بارز در واکنش به تنش اسمزی است که بیشترین تجمع آن در برگ‌هاست که افزایش پرولین باعث کاهش ظرفیت آب برگ می‌شود (Arshi *et al.*, 2002). افزایش پرولین در گیاه نر نسبت به ماده باعث کاهش رطوبت نسبی آب برگ در گیاه نر شده است. تنش‌های محیطی باعث تولید

- 90.
- Bates, L., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
 - Bettaieb, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk, B., 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33: 1103-1111.
 - Bybordi, A., 2012. Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. *Life Science Journal*, 9(4):1092-1101.
 - Chandra, S. Lata, H. and Elsohly, M.A., 2017. *Cannabis Sativa* L. *Botany and Bioechnology*. EBook.
 - Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C., 2012. Estimation of total flavonoid content in Propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10: 178-182.
 - Chapman, H.D. and Pratt, P.F., 1961. *Methods of Analysis for Soil, Plants and Waters*. United States. Los Angeles. University of California. Division of Agriculture. Sciences, p. 309.
 - Chen, L.H., Zhang, S., Zhao, H.X., Korpelainen, H. and Li, C.Y., 2010. Sex-related adaptive responses., interaction of drought and salinity in *Populus yunnanensis*. *Plant, Cell & Environment*, 33: 1767-1778.
 - ElSohly, M.A., Radwan, M.M., Gul, W., Chandra, S. and Galal, A., 2017. Phytochemistry of *Cannabis sativa* L. *Phytochemicals*, 130: 1-36.
 - Ghadirzadeh-Khorzoghi, E., Jannesar, M., Jahanbakhshian-Davaran, Z., Moazzam-Jazi, M., Lotfi, A., Tajabadi Pour, A. and Seyedi, S.M. 2022. The influence of environmental conditions on sex ratio in a dioecious plant *Pistacia vera* L. *Plant Physiology Reports*, 27(1): 152-159.
 - Gholinezhad, E., Darvishzadeh, R. and Bernousi, I., 2015. Evaluation of sunflower grain yield components under different levels of soil water stress in Azerbaijan. *Genetika*, 47(2): 581-598.
 - Grassi, G. and McPartland, J.M., 2017. Chemical and Morphological Phenotypes in Breeding of *Cannabis sativa* L. In *Cannabis sativa* L. *Botany and Biotechnology*. pp. 137-160. Springer, Cham.
 - Gorgini Shabankareh, H., Khorasaninejad, S., Soltanloo, H. and Shariati, V., 2021. Physiological response and secondary metabolites of three lavender genotypes under water deficit. *Scientific reports*, 11(1): 1-22.

حساس‌تر از گیاه نر است. در واقع می‌توان بیان کرد که تفاوت‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بین دو جنس نر و ماده به پایه ژنتیکی و فرایندهای تکاملی و ذخایر تولیدمثلی بستگی دارد. گیاه ماده بیشتر ذخایر غذایی و انرژی را صرف تولید بذر و تولید متابولیت‌های ثانویه می‌کند اما گیاه نر در جهت رشد خود استفاده می‌کند. هرچند افزایش متابولیت‌های ثانویه و برخی صفات فیزیکی از جمله افزایش تعداد تریکوم و کرک به‌عنوان پاسخ‌های سازگاری با تنش‌های محیطی در گیاه ماده است. با این حال گیاه نر از جهت رشد بهتر، سازگاری بهتری با تنش‌های محیطی دارد. از این رو می‌توان از برخی خصوصیات پایه نر برای افزایش مقاومت به تنش‌ها استفاده کرد.

سیاسگزاری

این پژوهش با حمایت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد، بنابراین از دست‌اندرکاران قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Andre, C.M., Hausman, J.F. and Guerriero, G., 2016. *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in plant science*, 7: 1-19.
- Arshi, A., Abdin, M.Z. and Iqbal, M., 2002. Growth and metabolism of senna as affected by salt stress. *Biologica Plantarum*, 45: 295-298.
- Asghari, R., 2018. Studying of the Effect of Salinity Stress on Phytochemical Characters of Jel and Leave of Aloe Vera Plant. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 30(4): 745-754. (In Persian)
- Ashraf, M.F. and Foolad, M., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*, 59(2): 206-216.
- Barnes, J.D., Balaguer, L., Manrique, E., Elvira, S. and Davison, A.W., 1992. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophyll a and b in lichens and higher plants. *Environmental and experimental botany*, 32 (2): 85-

- measurements of excised wheat leaves: position and age effects. *Crop Science*, 31: 1583-1588.
- Melgar, J. C., Benlloch, M. and Fernandez-Escobar, R., 2006. Calcium increases sodium exclusion in olive plants. *Scientia Horticulture*, 109:303-305.
 - Molahoseini, H., Feizian, M., Davazdaemami, S. and Mehdi Pour, E., 2018. Effects of silicone nano oxide coated with humic acid and salicylic acid on some morphological parameters and ionic composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) under salinity stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 34(4), 629-644. (In Persian).
 - Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ*, 25:239-250.
 - Nadeem, M. Li, J. Yahya, M. Wang, M. Asif, A. Cheng, A. Wang, X. and Ma, Ch., 2019. Grain Legumes and Fear of Salt Stress: Focus on Mechanisms and Management Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4): 799.
 - Obeso, J.R., 2002. The cost of reproduction in plants. *New Phytologist*, 155: 321-348.
 - Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y., Furuta, S. and Suda, I., 2002. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30: 5382-5387.
 - Ondrasek, G., Rathod, S., Manohara, K.K., Gireesh, C., Anantha, M.S., Sakhare, A.S., Parmar, B., Yadav, B.K., Bandumula, N., Raihan, F. and Zielińska-Chmielewska, A., 2022. Salt Stress in Plants and Mitigation Approaches. *Plants*, 11(6): 717.
 - Parida, A.K. and Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plant: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60:324-349.
 - Renner S.S. and Ricklefs R.E., 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany*, 82: 596-606.
 - Safarnejad, A., Sadr, S.V.A. and Hamidi, H., 2007. Effect of salinity stress on morphological characters of *Nigella sativa*. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 15(1): 75-84. (In Persian)
 - Shah, A.N., Tanveer, M., Abbas, A., Fahad, S., Baloch, M.S., Ahmad, M.I., Saud, S. and Song, Y., 2021. Targeting salt stress coping mechanisms for stress tolerance in Brassica: A research perspective. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158: 53-64.
 - Shahzad, B., Rehman, A., Tanveer, M., Wang, L., Park, - Gupta, A., Mishra, R., Rai, S., Bano, A., Pathak, N., Fujita, M., Kumar, M. and Hasanuzzaman, M., 2022. Mechanistic Insights of Plant Growth Promoting Bacteria Mediated Drought and Salt Stress Tolerance in Plants for Sustainable Agriculture. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7): 3741.
 - Jiang, X., Qi, W., Xu, X., Li, Y., Liao, Y. and Wang, B., 2014. Higher soil salinity causes more physiological stress in female of *Populus cathayana* cuttings. *Acta Ecologica Sinica*, 34: 225-231.
 - Jin, Z.M., Wang, C.H., Liu, Z.P. and Gong, W.J., 2007. Physiological and ecological characters studies on Aloe vera under soil salinity and seawater irrigation. *Process Biochemistry*, 42(4): 710-714.
 - Kaur, G. and Asthir, B., 2015. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia plantarum*, 59: 609-619. doi: 10.1007/s10535-015-0549-3
 - Khataar, M., Mohhamadi, M.H. and Shabani, F., 2018. Soil salinity and matric potential interaction on water use, water use efficiency and yield response factor of bean and wheat. *Scientific Reports*, 8(1): 1-13.
 - Khorasaninejad, S., Soltanloo, H., Ramezani, S.S., Hadian, J. and Atashi, S., 2015. The effect of drought stress on the growth, essential oil yield and chemical composition of lavender. *journal of crops improvement (Journal of Agriculture)*, 17 (4): 979-988. (In Persian)
 - Khorasaninejad, S., Soltanloo, H., Hadian, J. and Atashi, S., 2016. The effect of salinity stress on the growth, essential oil yield and chemical composition of lavender (*Lavandula angustifolia*). *Journal of Horticulture Science*, 30 (2): 206-216. (In Persian).
 - Korres, N.E., Norsworthy, J.K., FitzSimons, T., Roberts, T.L., Oosterhuis, D.M. and Govindjee, G., 2022. Secondary sexual dimorphism traits under abiotic stress in dioecious species: The case of *Amaranthus palmeri*. bioRxiv.
 - Manaa, A., Goussi, R., Derbali, W., Cantamessa, S., Abdelly, C. and Barbato, R., 2019. Salinity tolerance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) as assessed by chloroplast ultrastructure and photosynthetic performance. *Environmental and Experimental Botany*, 162, 103-114.
 - Massei, G., Hartley, S.E. and Bacon, P.J., 2000. Structural and chemical variation of Mediterranean woody evergreen species: the effects of age, season and browsing by ungulates. *Journal of Vegetation Science*, 11: 1-8.
 - McCaig, T.N. and Romogosa, I., 1991. Water status

- 93.
- Weng L, Zhang M, Wang K, Chen G, Ding M, Yuan W, Zhu Y, Xu W, Xu F. 2020. Potassium alleviates ammonium toxicity in rice by reducing its uptake through activation of plasma membrane H⁺-ATPase to enhance proton extrusion. *Plant Physiol Biochem* 151:429-437.
 - Wu, H. C., Chen, H. M. and Shiau, C. Y., 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food research international*, 36(9-10): 949-957.
 - Xu, Z., Pehlivan, N., Ghorbani, A. and Wu, C., 2022. Effects of azorhizobium caulnodans and piriformospora indica co-inoculation on growth and fruit quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under salt stress. *Horticulturae*, 8(4): 302.
 - Yu, B., Chen, M., Grin, I. and Ma, C., 2020. Mechanisms of sugar beet response to biotic and abiotic stresses. *Advances Experimental Medicinal Biology*, 1241:167-194.
 - Zare, F., Khorasaninejad, S. and Hemmati, Kh., 2018. The effect of silicon on some morpho-physiological and phytochemical traits of Purple Coneflower (*Echinacea purpurea* L.) under salinity stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 10(37): 55-68. (In Persian)
 - Zarei, F., Hezarjaribi, A., Khorasaninejad, S. and Zakerinia, M., 2020. The effect of foliar application of humic acid on increasing *Stevia rebaudiana* tolerance under different irrigation regimes. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 28 (2): 281-297. (In Persian)
 - Zhang, S., Chen, L., Duan, B., and Korpelainen, H. and Li, C., 2012. *Populus cathayana* male exhibit more efficient protective mechanisms than females under drought stress. *Forest Ecology and Management*, 275: 68-78.
 - S.K. and Ali, A., 2022. Salt stress in brassica: effects, tolerance mechanisms, and management. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41(2): 781-795.
 - Shaki, F., Ebrahimzadeh Maboud, H. and Niknam, V., 2018. The effect of interaction between salicylic acid and penconazole on physiological and biochemical responses of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under salinity. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 31(2): 370-382. (In Persian)
 - Shariat, A., Assareh, M.H. and Ghamari-Zare, A., 2017. Antioxidative responses of *Eucalyptus camaldulensis* to different concentrations of copper. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 7(1): 41-52.
 - Sullivan, C.Y. and Ross, W.M., 1979. Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. *Stress Physiology in Crop Plants*, 263-281.
 - Sun, J., Dai, Z.G., Zhang, X.Y., Tang, Q., Cheng, C.H., Liu, C., Yu, Y., Xu, G.C., Xie, D.W. and Su, J.G., 2022. Identification of TPS and TPP gene families in *Cannabis sativa* and their expression under abiotic stresses. *Biologia plantarum*, 66: 14-23.
 - Tavakoli-Nia, A., Assareh, M.H., Shariat, A. and Khaniki, G.R.B., 2016. Effects of salinity stress on morphological and physiological parameters in three *Eucalyptus* species. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 24(1). (In Persian)
 - Thimmaiah, S.R., 2004. *Standard Methods for Biochemical Analysis* Kalyani Publishers, New Delhi, 545.
 - Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Kholdebarin, B. and Rowshan, V., 2014. Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. *South African Journal of Botany*, (93): 92-97.
 - Wagner, G.J., 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, 64: 88-

Effect of salinity stress on morphological, physiological, and biochemical traits of male and female plants of cannabis (*Cannabis sativa* L.)

F. Beheshti¹, S. Khorasaninejad^{2*}, K. Hemmati³

1- MSc. Graduated, Dept. Horticultural Sciences, Plant Production faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Gorgan, I.R. Iran

2*- Corresponding author, Assist. Prof., Dept. Horticultural Sciences, Plant Production faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Gorgan, I.R. Iran. Email: skhorasaninejad@yahoo.com

3- Assist Prof., Dept., Horticultural Sciences, Plant Production faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. Iran.

Received: 16.05.2022 Accepted: 05.12.2022

Abstract

Cannabis (*Cannabis sativa* L.) is an important dicotyledonous medicinal plants that used in many developed countries of the world. The present study was aimed to evaluate the effect of salinity stress on morphological, physiological, and biochemical traits of male and female plants of cannabis (*Cannabis sativa* L.). A factorial experiment was conducted using salinity stress treatments at four levels (0, 50, 75, 100 mM) and plant sex in two levels (male and female genotypes) based on a completely randomized design with three replications under greenhouse condition. The results showed that the salinity stress by plant sex interaction effects were significant for plant yield components, total phenol, antioxidant activity, total flavonoid, proline and carbohydrate ($P < 0.01$). Increasing the salinity level significantly decreased plant height, number of leaves, plant fresh and dry weights in both sexes. But, the root weight, root length, and number of flowers increased in female plants up to 75 mM salinity. Also, increasing salinity level significantly increased secondary metabolites such as phenol, flavonoid, proline, and soluble carbohydrates in both males and female plants. However, by increasing salinity level, the amount of antioxidants increased in the females and decreased in the male plants than that for control, respectively. The sodium to potassium ratio (N/K) was considered as an index of salinity tolerance. The highest N/K ratios were observed at 75 and 100 mM salinity levels in shoot and root of the female plants, respectively. The results indicated that cannabis female plants can tolerate salinity up to 75 mM salinity level, and the female biomass was increased, but above the 75 mM level, the female plants were more sensitive than that for male plants in terms of salinity.

Keywords: Antioxidants, potassium, proline, plant sex, calcium.