اثر ABA روی رنگدانه ها و دلتا ۹- تتراهیدروکانابینول گیاه شاهدانه *(Cannabis sativa)* در مرحله گلدهی

حکیمه منصوری* و زهرا اسرار

کرمان، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۶/۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۲

چکیده

در این مطالعه اثر ABA روی مقدار کلروفیل، کاروتنوئید، آنتوسیانین و فلاونوئیدهای گیاهان نر و ماده شاهدانه بررسی گردید. گیاهان با محلولهای ABA (mg/l ۱ و۱۰) و آب مقطر به عنوان شاهد محلول پاشی شدند. نتایج نشان داد که مقدار کلروفیل b a،و کل در گیاهان ماده تیمار شده با mg/l ۱و۱۰ABA کاهش یافت. گیاهان نرفقط در ABA۱۰ mg/l کاهش مقدار کلروفیل را نشان دادند. تیمار ABA تأثیری در مقدار کاروتنوئیدها در گیاه نر نداشت ولی در گیاه ماده باعث کاهش غلظت کاروتنوئیدها شد. غلظت آنتوسیانین در گیاهان نر در ABA ۱۰mg/l کاهش یافت در حالی که مقدار آنتوسیانین گیاهان ماده در هر دو سطح ABA افزایش یافت. در هر دو جنس نر و ماده، فلاونوئیدها با ماکزیمم جذب ۲۷۰nm در تیمار ABA۱ mg/l افزایش نشان دادند و فلاونوئیدها با ماکزیمم جذب ۳۳۰nm بدون تغییر بودند. فلاونوئیدهای با ماکزیمم جذب۳۰۰nm در گیاهان نر در ABA۱mg/L و در گیاهان ماده در تیمار ABA۱۰mg/l افزایش نشان داد. مقدار دلتا۹- تتراهیدروکانابینول در گیاهان تیمار شده باABA افزایش یافت. این مطالعه نشان داد گیاه نر و ماده شاهدانه به صورت متفاوتی به ABA پاسخ می دهند. ABA می تواند متابولیتهای ثانویه ای مانند آنتوسیانین ، فلاونوئیدها و تتراهیدروکانابینول (THC) را افزایش دهد و باعث کاهش متابولیتهای اولیه مانند کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاه شاهدانه شود.

واژه های کلیدی: آنتوسیانین، فلاونوئیدها، کانابینوئیدها

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۲۴۳۱۵۶۸، پست الکترونیکی: h_mansuori@yahoo.com

مقدمه

گیاه شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) گیاهی است دو پایه و یک ساله از راسته اورتیکال، خانواده کانابیاسه. این گیاه برگهای پنجه ای با پنج تا هفت برگچه دندانه دار دارد (۳۰). شاهدانه یک کارخانه واقعی تولید کننده متابولیتهای ثانویه است. آلکانها، ترکیبات نیتروژن دار (آمینها، نمکهای آمونیوم، آلکالوئیدهای مشتق شده از اسپرمیدین) فلاونوئیدها، اسپیروایندان فنولیکها و دی هیدرواستیلبن ها در گیاه شناسایی شده است. ترکیباتی شبیه فریدلین، اپی فریدلینول، بتاسیتواسترول، کارون و دی هیدروکارون از ریشه ها جدا سازی شده است (۲۲).

از گیاه شاهدانه استفاده های زیادی در زمینه دارویی می شود. کانابینوئیدها ترکیبات ترپنوفنولیک هستند که تنها در جنس شاهدانه شناسایی شده اند. بیش از شصت کانابینوئید در گیاه شاهدانه شناسایی شده است. از کانابینوئیدهای اصلی می توان کانابیجرول (CBG)، دلتا۹تتراهیدروکانابینول (THC)، کانابینول (CBN)، کانابیدیول (CBD) و کانابیکروم (CBC) را نام برد(۳۰). از بین این ترکیبات بیشترین اثرات دارویی شناخته شده مربوط به THC می باشد(۴، ۸ و ۹). علاوه بر استفاده های دارویی، از گیاه شاهدانه در صنعت نساجی برای تهیه الیاف

طبیعی استفاده می شود. دانه شاهدانه و همچنین روغن آن به دلیل داشتن مقادیر قابل توجه لیپیدهای امگا ۳ مورد توجه متخصصین علم تغذیه قرار گرفته است (۱۵).

جنس نر و ماده شاهدانه مخصوصاً در زمان گلدهی خصوصیات رشدی متفاوتی نشان می دهند. گیاه ماده ضخیم تر، کوتاه تر و سیکل زندگی طولانی تری نسبت به گیاه نر دارد (۱۸). استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاهی باعث تغییر بیان جنسیت در گیاه بالغ شاهدانه می شود. به طوری که جیبرلین باعث تشکیل گیاه نر و آبسیسک اسید تشکیل گیاه ماده یا گلهای دو جنسی را تحریک می کند (۳). وجود بعضی اختلافات در خصوصیات بیوشیمیایی و مقدار متابولیتهای ثانویه بین جنس نر و ماده گیاه شاهدانه به اثبات رسیده است (۲۰ و۲۸).

از طرفی هورمون ABA به عنوان یکی از تنظیم کننده های رشد گیاهی معرفی شده است که در فرآیندهای مختلف رشد و نمو گیاه از جمله بلوغ جنین، نمو و جوانه زنی دانه، تقسیم و طویل شدن سلولی، باز و بسته شدن روزنه ها، نمو ریشه و پاسخ به تنشهای محیطی مانند خشکی، شوری، سرما، حمله پاتوژن و اشعه ماورائ بنفش نقش دارد(۲۳). در تحقیق حاضر به دلیل اهمیت دارویی و صنعتی گیاه شاهدانه اثر ABA روی تغییرات مقدار کلروفیل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، فلاونوئیدها و ترکیب دارویی THC در این گیاه مورد بررسی قرار گرفت. در ضمن جنس نر و ماده شاهدانه از نظر تفاوت در مقدار این ترکیبات مقایسه شد.

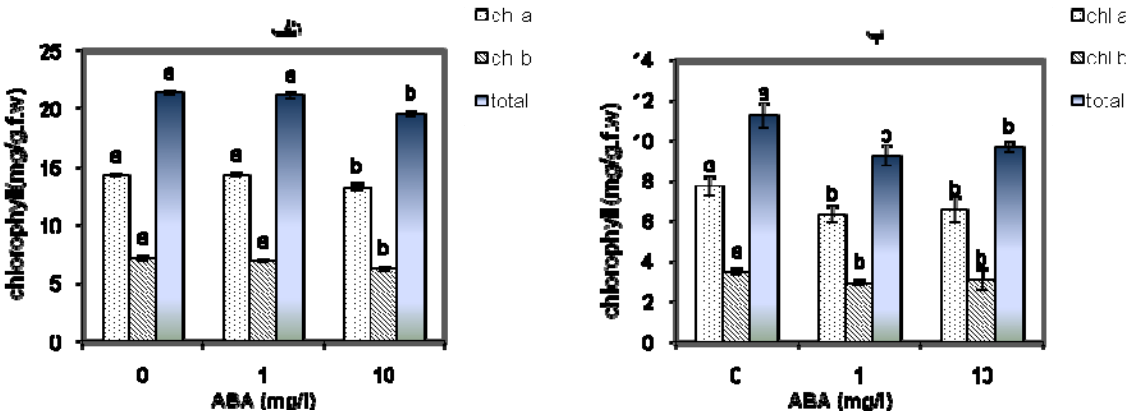
مواد و روشها

کشت گیاه: ۵ دانه شاهدانه در گلدانهایی به قطر ۱۰ cm کشت داده شد. پس از رویش تعداد گیاهان به یک گیاه در هر گلدان کاهش داده شد. یک ماه پس از رویش، گیاهان به گلدانهای حاوی خاک (لوم، ماسه و گیاخاک ۱:۲:۱) منتقل شدند. گیاهان در فیتوترون(۱۶ ساعت نور،۸ ساعت تاریکی) رشد کردند و هر هفته یک بار با محلول غذایی لانگ اشتاین آبیاری شدند. پس از گلدهی گیاهان نر و ماده با محلولهای mg/l ۱۰، ۱، ۰ ABA به طور کامل محلول پاشی شدند. به طوری که قطرات محلول از برگها شروع به چکیدن کرد. این تیمار سه بار و به فاصله ۲۴ ساعت تکرار شد. یک روز پس از تیماردهی برگهای گیاهان جهت بررسیهای بیوشیمیایی با استفاده ازنیتروژن مایع منجمد شد. جهت اندازه گیری مقدار THC، برگها و گلها در دمای اتاق به مدت دو روز خشک شدند.

کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها با روش Lichtenthaler اندازه گیری شد (۱۶). برای اندازه گیری آنتوسیانین با روش Krizek ۰/۱ گرم بافت گیاهی با ml ۱۰متانول اسیدی (ml ۹۹ متانول با HCl۱ ml) عصاره گیری شد (۱۴). عصاره به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه در تاریکی نگهداری شد. پس از سانتریفیوژ جذب نمونه ها درnm ۵۵۰ خوانده شد و با استفاده از ضریب خاموشی Wagnerمقدار آنتوسیانین محاسبه گردید (۳۲). برای اندازه گیری فلاونوئید ۰/۱ گرم بافت گیاهی با ml ۱۰ اتانل اسیدی (ml ۹۹ اتانل و ml ۱ اسید استیک) عصاره گیری شد. عصاره ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه نگهداری شدند. پس از سانتریفیوژ جذب نمونه ها در طول موجهای ۲۷۰،۳۰۰و ۳۳۰ خوانده شد.

برای عصاره گیری THC، ۵۰ میلی گرم بافت خشک برگ یا گل با ml ۱کلروفرم به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از صاف کردن عصاره، حلال تبخیر شد و باقیمانده درml ۰/۵متانول حل شد. اندازه گیری کمی THC با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع و دستگاه Ultra-(Performance Liquid Chromatography UPLC) ساخت شرکت Waters با آشکارسازPDA و ستون UPLC BEH C_{18}(2.1 mm × 150 mm) با ذراتی به قطر ۱/۷ میکرومتر انجام شد. شیب استونیتریل- آب با بافر (PH=3)۰/۰۵ درصد TFA از ۷۰:۳۰ تا ۱۰۰:۰ در ۵ دقیقه،

۱۰۰:۰ در ۱ دقیقه، برگشت به ۳۰:۷۰ در ۱ دقیقه با سرعت جریان $0/4\ ml\ min^{-1}$، طول موج ۲۳۰ nmو حجم تزریق ۷µl برای آنالیز THC استفاده شد.

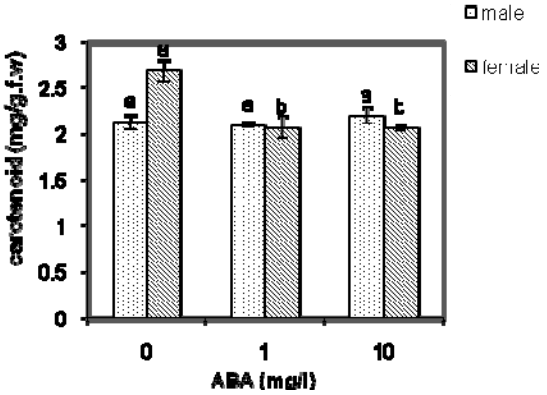


شکل ۱–مقدار کلروفیل b,a وکل در الف)گیاه نر و ب) گیاه ماده شاهدانه تحت تیمار با ABA (هر عدد میانگین سه تکرار و علائم روی ستونها خطای معیار SE را نشان می دهد. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار با حدود اطمینان ۹۵٪ بین تیمارها ست.

تجزیه آماری: آزمایش به صورت طرح کامل تصادفی با سه سطح هورمون آبسیسیک اسید (ABA mg/l ۱۰و۱و۰)، سه تکرار و به صورت جداگانه روی گیاهان نر و ماده انجام شد. تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار spss انجام شد و میانگینها از طریق آزمون دانکن در سطح P<۰/۰۵ مقایسه شد.

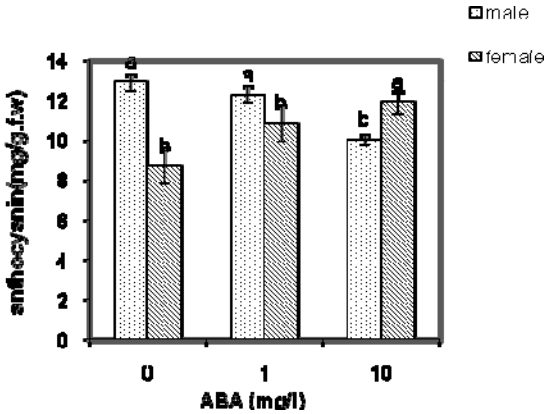
نتایج

گیاهان نر و ماده از نظر میزان کلروفیل تفاوتی نداشتند. مقدار کلروفیل a, b و کل در گیاه نر در تیمار mg/l ۱۰ ABA کاهش معنی داری در مقایسه با گیاهان کنترل نشان داد (شکل ۱ الف). هر دو سطح تیمار ABA باعث کاهش مقدار کلروفیل در گیاهان شد ولی بین دو سطح تیمار اختلاف معنی دار مشاهده نشد (شکل ۱ ب). میزان کاروتنوئید در گیاهان ماده بیشتر از نر بود. تیمار ABAتأثیری در مقدار کاروتنوئیدهای گیاهان نر نداشت، ولی در هر دو سطح باعث کاهش مقدار کاروتنوئیدها در گیاهان ماده شد (شکل ۲). گیاهان نر در مقایسه با گیاهان ماده مقدار بیشتری آنتوسیانین داشتند. مقدار آنتوسیانین در گیاهان نر تیمار شده با mg/l ۱۰ ABA کاهش یافت اما در گیاهان ماده در تیمارهای mg/l ۱و۱۰ ABA افزایش یافت (شکل ۳). نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری در مقدار فلاونوئیدها بین جنس نر و ماده این گیاه وجود ندارد. در هر دو جنس (نر و ماده) فلاونوئیدهایی که در طول موج ۲۷۰ ماکزیمم جذب دارند در تیمار mg/l ABA۱ افزایش نشان داد (شکل ۴). فلاونوئیدهایی که در طول موج ۳۰۰ ماکزیمم جذب دارند در گیاه نر در mg/l ۱ ABA و در گیاه ماده در تیمار mg/l ABA۱۰ افزایش نشان داد. جذب فلاونوئیدها در طول موج ۳۳۰ در گیاه نر و ماده تفاوت معنی داری با گیاهان کنترل نشان نداد.



شکل ۲- مقدار کاروتنوئید در برگهای گیاه نر و ماده شاهدانه تحت تیمار با ABA.

تاکنون با وجود اهمیت گیاه شاهدانه به عنوان یک گیاه دارویی تحقیق علمی در مورد مقدار ماده مؤثره گیاه شاهدانه بومی ایران انجام نشده است. در این بررسی مقدار THC و CBD مورد بررسی قرار گرفت. برگها و گلهای گیاهان نر و ماده در دوره گلدهی مقدار ناچیزی CBD داشتند به همین دلیل نتایج مربوط به CBD در این تحقیق آورده نشده است.



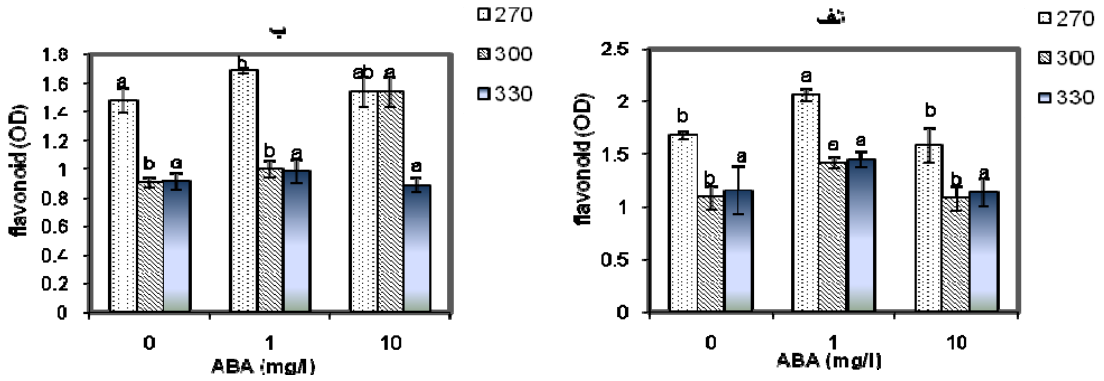
شکل ۳-مقدار آنتوسیانین در برگهای گیاه نر و ماده شاهدانه تحت تیمار با ABA

جدای از تیمارABA، مقایسه بین گیاهان نر و ماده نشان داد که گیاهان ماده مخصوصاً گلهای ماده مقدار بیشتری THC دارند (شکل ۵). مقدارTHC در گلهای ماده تقریباً دو برابر گلهای نر بود. در هر جنس مقدار THC در گلها تقریباً دو برابر برگها بود. تیمارABA باعث افزایش معنی دار مقدار THC در برگها و گلهای هر دو جنس شد. تیمارABA در افزایش مقدار THC برگهای گیاهان ماده مؤثرتر از گلها بود.

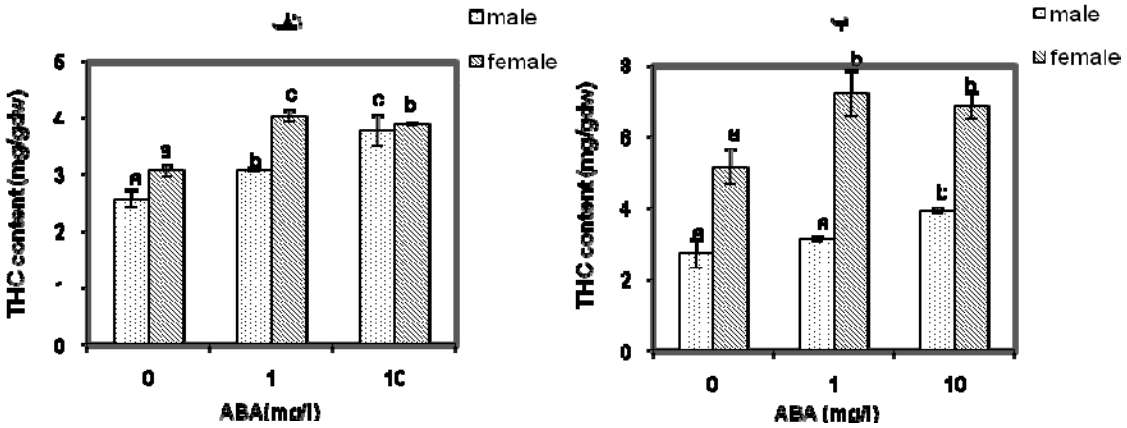
بحث

در مطالعه حاضر تیمار ABA باعث کاهش کلروفیل شد. استفاده از ABA اگزوژن در جو، گندم و سویا نیز باعث کاهش کلروفیل شده است (۵، ۲۴، ۲۹). کاهش کلروفیل که در تیمار ABA مشاهده می شود می تواند ناشی از تأثیر سوء هورمون بر ماده سازی گیاه باشد (۳۱). اثرات بازدارندگی ABA روی انتقال الکترون، کاهش فعالیت روبیسکو و افزایش سرعت تنفس به اثبات رسیده است. تمام اثرات فوق (از طریق اختلال در انتقال انرژی یا افزایش تولید اکسیژن) می تواند باعث افزایش تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن شود (۱۷). Synkova نیز بیان کرده است که ABA باعث افزایش مقدار ROS در گیاه می شود (۲۷). افزایش ROS باعث آسیب دیدن بعضی ترکیبات از جمله کلروفیلها می گردد.

در مطالعه حاضر الگوی تغییر کاروتنوئیدها در گیاه ماده مشابه تغییر کلروفیل بود. یعنی کاهش کلروفیل با کاهش کاروتنوئید همراه بود. در گیاه نر تفاوت معنی داری بین مقدار کاروتنوئید گیاهان تیمار شده و گیاهان کنترل وجود نداشت. در توافق با نتایج به دست آمده در این تحقیق تیمار با ABA باعث کاهش بتاکاروتن در *Helianthus annus* شده است (۱۳).



شکل ۴- میزان جذب فلاونوئیدها در طول موجهای ۲۷۰،۳۰۰،۳۳۰ در الف) گیاه نر و ب) گیاه ماده شاهدانه تحت تیمار با ABA.



شکل ۵- مقدار THC در الف) برگها و ب) گلهای گیاهان نر و ماده شاهدانه تحت تیمار با ABA

یکی از دلایل کاهش مقدار کاروتنوئیدها می تواند افزایش تجزیه این ترکیبات در اثر تیمارABA باشد. همان طور که ثابت شده است، ABA باعث افزایش سطح رونویسی از ژن *CCD* می شود. این ژن بیان کننده آنزیم دخیل در کاتابولیسم کاروتنوئیدهاست (۲). از طرفی بعضی از محققان بیان کردند که تیمار ABA باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و مقدار آنتی اکسیدانهای غیر آنزیمی از جمله کاروتنوئیدها می شود (۱۰ و ۳۳). با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایشات مختلف می توان فرض کرد که احتمالاً ABA در گیاهان مختلف یا حتی در ارگانهای متفاوت باعث تحریک سیستم آنتی اکسیدانی خاصی شود.

دو جنس نر و ماده گیاه شاهدانه از نظر محتوای آنتوسیانین پاسخ متفاوتی به تیمار ABA نشان دادند. گیاه ماده افزایش و گیاه نر کاهش نشان داد. تجمع آنتوسیانینها در برگها، ساقه ها و ریشه ها به وسیله عوامل محیطی مختلف مثل درجه حرارت، نور، عناصر غذایی و تنشهایی مانند زخم، حمله پاتوژن و خشکی تحریک می شود. بیان ژنهای مسیر بیوسنتز آنتوسیانین و تجمع آن در بین بافتها، اندامها و گونه های گیاهی مختلف الگوهای متفاوتی را نشان می دهد (۱۹). لذا این امکان وجود دارد که گیاه نر شاهدانه به عنوان مثال آنتوسیانین را در گلها ذخیره کند. بیوسنتز آنتوسیانین در میوه توت فرنگی تحت تیمار ABA افزایش یافت و این تغییر هماهنگ بود با افزایش اتیلن، ترکیبات فنلی و فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) که آنزیم

اصلی در سنتز ترکیبات فنلی می باشد. اتیلن اگزوژن باعث تحریک فعالیت PAL می شود. بنابراین اثرات تیمار ABA می تواند به دلیل تحریک سنتز اتیلن باشد (۱۱). همچنین اثرات بازدارندگی ABA روی سنتز آنتوسیانین در سلولهای کشت شده هویج (۲۱) و گیاهچه های *Raphanus sativus* گزارش شده است (۷). در کشت torenia نیز ABA بیان چالکون سنتاز القاء شده به وسیله جیبرلین و ایجاد رنگدانه را کاهش داده است. تفاوتهایی که بین اثرات تنظیم کننده های رشد روی سنتز آنتوسیانین وجود دارد ممکن است به خاطر اختلاف در حالت نموی و فیزیولوژیکی سلولها به علاوه نوع گیاه مورد استفاده باشد (۱۹).

فلاونوئیدهای طول موجهای ۲۷۰و۳۰۰ در غلظت ۱ mg/l ABA در جنس نر افزایش نشان داد. در جنس ماده نیز افزایش جذب فلاونوئیدها در هر دو غلظت ABA مشاهده شد. افزایش مقدار فلاونوئیدها می تواند بدلیل افزایش فعالیت PAL باشد. از طرفی همان طور که قبلاً ذکر شد اتیلن اگزوژن باعث افزایش فعالیت PAL می شود و اثر ABA روی فلاونوئید می تواند به صورت غیر مستقیم از طریق تحریک سنتز اتیلن اعمال شود. از آنجاکه غلظتهای متفاوت ABA می تواند باعث تحریک یا بازدارندگی سنتز اتیلن شود (۲۶)، ممکن است ABA در غلظت کم (mg/l ۱) باعث افزایش سنتز اتیلن در نتیجه افزایش فعالیت PAL و افزایش فلاونوئیدها شده باشد و در غلظت بالا(mg/l ۱۰) باعث بازدارندگی سنتز اتیلن ، PAL و فلاونوئیدها شده باشد. در میوه گریپ فروت استفاده از ABA اثرات کمی در سطح فلاونوئیدهای داشته است (۱).

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 CBDکه توسط کارل و همکارانش (۱۲) 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 به شمار می آید. معمولاً THC به مقدار کم در برگهای تازه گیاه یافت می شود 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 می شود (۶ و ۲۵).

مقدارTHC در گلها و برگهای گیاهان ماده بیش از گیاهان نر بود. البته این تفاوت در مورد برگها ناچیز و در مورد گلها زیاد بود. تیمار ABA باعث افزایش مقدار THC در برگها و گلها شد. چون کلروفیلها و THC هر دو مسیری سنتزی مشترکی دارند ممکن است قسمتی از افزایش مقدار THC به دلیل کاهش مقدار کلروفیل تحت تأثیر تیمار ABA باشد.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر اطلاعاتی را درباره تأثیر ABA روی مقدار پیگمانها و THC در گیاه دو پایه Cannabis sativa و تفاوتهایی که بین گیاه نر و ماده در این مورد وجود دارد ارائه می دهد. تحقیق بیشتر در این زمینه می تواند به افزایش شناخت از فیزیولوژی این گیاه دو پایه، نقش هورمونهای گیاهی در تفاوت بین جنسها و استفاده از خواص دارویی این گیاه کمک کند.

تشکرو قدردانی: بدین وسیله از پروفسور Jan Szopa دانشگاه وراسلاو لهستان (Wroclaw university) که امکانات لازم جهت اندازه گیری THC را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

1. Berhow MA. 2000. Effects of early plant growth regulator treatments on flavonoid levels in grapefruit. Plant Growth Regulation. 30: 225–232.

2. Cao Y, Guo XL, Zhang Q, Cao ZY, Zhao YX and Zhang H.2005.Isolation and characterization of carotenoid cleavage dioxygenase gene in halophyte *Suaeda salsa*. Plant Growth Regulation .46:61–67.
3. Chailakhyan M KH and Khryanni V N. 1978. Influence of growth regulators absorbed by the root on sex expression in hemp plants. Planta. 2:181-184.
4. Croxford JL and Yamamura T. 2005. Cannabinoids and the immune system: Potential for the treatment of inflammatory diseases? Journal of Neuroimmunology. 166:3-18.
5. Cuello J, Quiles MJ, Rosauro J and Sabate B.1995. Effects of growth regulators and light on chloroplasts NAD(P)H dehydrogenase activities of senescent barley leaves. Plant Growth Regulation. 17: 225-232.
6. Fellermeier M., Eisenreich W., Bacher A. and Zenk M.H. 2001 Biosynthesis of Cannabinoids: Incorporation experiments with ^{13}C-labeled glucoses. Eurpian Journal Biochemistry. 268: 1596-1604.
7. Guruprasad K, Laloraya L (1980) Effect of pigment precursors on the inhibition of anthocyanin biosynthesis. Plant Science Letters 19:73–79
8. Guzman M. 2003. Cannabinoids: Potential anticancer agents. Nature Reviews. 3:745-755.
9. Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE and Porrino LY. 2004. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. Neuropharmacology. 47:345-358.
10. Jiang M and Zhang J. 2001. Involvement of plasma membrane NADPH oxidase in abscisic acid- and water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings. Planta. 215: 1022-1030.
11. Jiang Y and Joyce DC. 2003. ABA effects on ethylene production, PAL activity, anthocyanin and phenolic contents of strawberry fruit. Plant Growth Regulation. 39: 171–174.
12. Karl W, Mahlberg H and Mahlberg PG. 2004 A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in cannabis (Cannabiacea). American Journal of Botany 91(6): 966–975.
13. Keleo Y and Ünyayar S. 2004. Responses of antioxidant defense system of *Helianthus annuus* to abscisic acid treatment under drought and water logging. Acta Physiologiae Plantarum. 26(2): 149-156.
14. Krizek DT,Britz SJ and Mirecki RM .1998. Inhibitory effect of ambient level of solar UV-A and UV-B radiation on growth of CV. New Red lettuce. Physiologia plantarum.103:1-7.
15. Leizer C, Ribnicky D, Poulev A, Dushenkov S and Raskin. 2000. The composition of hemp seed oil. Journal of Nutraceuticals Functional and Medical Foods. 2(4):35-55.
16. Lichtenthaler HK.1987.Chlorophylls and Caretenoids:pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 148: 350-382.
17. Maslenkova l, Toncheva S and Zeinalov Y.1995. Effect of abscisic acid and jasmonic acid (or JA-ME) on the photosynthetic electron transport and oxygen evolving reactions in pea plant. Bulgarian Journal Plant Physiology. 21(4): 48–55.
18. Mcphee HC. 1924. The influence of environment on sex in Hemp, cannabis sativa. Journal of Agricultural Research. 11:1067-1080.
19. Nagira Y, Ikegami K, Koshiba T and Ozeki Y.2006.Effect of ABA upon anthocyanin synthesis in regenerated torenia shoots. Journal of Plant Research .119:137–144.
20. Ohlsson A, Abou-Chaar CI, Agurell S,Nilsson IM, Olofsson K and Sandberg F. 1971.Cannabinoid constituents of male and female Cannabis sativa. UN Bulletin on Narcotics. 23: 29-32.
21. Ozeki Y, Komamine A (1986) Effects of growth regulators on induction of anthocyanin synthesis in carrot suspension cultures. Plant Cell
22. Pate D W. 1994. Chemical ecology of cannabis. Journal of the International Hemp Association. 2:29 32-37.
23. Razem F A, Baron K and Hill RD .2006. Turning on gibberellin and abscisic acid signaling. Current Opinion in Plant Biology.9:454-459.
24. Samet J.S., Thomas R. and Sinclair T.R. 1980. Leaf senescence and abscisic acid in leaves of field-grown soybean. Plant Physiol. 66:1164-1168.
25. Sirikantaramas S., Morimoto S., Shoyama Y., Ishikawa Y., Yoshiko Y., Shoyama Y. et al. 2004. The gene controlling marijuana psychoactivity molecular cloning and heterologous expression of tetrahydrocannabinolic acid synthase frome cannabis sativa L. Journal of Biological Chemistry. 39767-39774.

26. Sharp RE and Noble ME .2002.ABA, ethylene, and the control of shoot and root growth under water stress. Journal of Experimental Botany. 53(366):33-37.

27. Synkova H., Pospisilova J .2002. Invitro precultivation of tobacco affects the response of antioxidative enzymes to exvitro acclimation. Journal of Plant Physiology.159:781-789.

28. Truta E,Gille E,Toth E and Maniu M. 2002. Biochemical differences in cannabis sativa depending on sexual phenotype. Journal of Apply Genetic. 43 (4):451-462.

29. Xie Z, Jiang D, Dai T, Jing Q and Cao W. 2004. Effects of exogenous ABA and cytokinin on leaf photosynthesis and grain protein accumulation in wheat ears cultured in vitro. Plant Growth Regulation. 44: 25–32.

30. 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.

31. Yun C. Chang YC and Walling LL .1991.Abscisic acid negatively regulates expression of chlorophyll a/b binding protein genes during soybean embryogeny. Plant Physiology. 97: 1260-1264.

32. Wagner GJ.1979.Content and vacuole /extravacuole distribution of neutral sugars,free amino acids and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology.69:88-93.

33. Zhou B, Guo Z and Liu Z. 2005. Effects of abscisic acid on antioxidant systems of *Stylosanthes guianensis* (Aublet) Sw. under chilling stress .Crop Science. 45:599-605.

The effect of ABA on pigments and tetrahydrocannabinol in *Cannabis sativa* at flowering stage

Mansouri H. and Asrar Z.

Biology Dept., Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of IRAN

Abstract

The effect of ABA was investigated on chlorophyll, carotenoid, anthocyanin and flavonoid content in leaves of male and female cannabis plants at flowering stage. Plants were sprayed with ABA solutions (1 and 10 mg/l) and distilled water as control. Content of chlorophyll a, b and total decreased in female plants sprayed with 1 and 10 mg/l ABA. Male plants showed a decrease in chlorophyll content only in high ABA levels (10 mg/l). ABA treatment did not affect carotenoid content in male plants but it caused the decrease of carotenoids content in female ones. Anthocyanin content decreased by treatment with 10 mg/l ABA in male plants but in females, anthocyanin content increased with ABA treatment (1 and 10 mg/l). In both of female and male plants, flavonoids A 270 on leaf increased in 1mg/l ABA but flavonoids A 330 on leaf did not change. Flavonoids A 300 increased in 1mg/l ABA in male plants and in 10 mg/l ABA in female ones. The content of Δ^9-tetrahydrocannabinol (THC) increased the treated plants with ABA. This study showed that male and female plants of cannabis respond to ABA differently. ABA can increase secondary metabolites such as anthocyanin and flavonoids and decrease primary metabolites such as chlorophyll and carotenoids.

Keywords: Anthocyanin, Flavenoids, Cannabinoids