بررسی اثر بافت خاک، تغذیهٔ معدنی و pHهای مختلف محلول غذایی بر تولید مادهٔ ضد مالاریایی آرتمیزینین(Artemisinin) در گیاه *Artemisia annua* L.

حسین لاری یزدی[1*]، رمضانعلی خاوری‌نژاد[2]، عبدالحسین روستائیان[3]، علی گودرزی[4]

۱- استادیار زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد
۲- استاد زیست‌شناسی، دانشگاه تربیت معلم تهران
۳- استاد شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران
٤- مربی زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد
* آدرس مکاتبه: ، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، گروه زیشت‌شناسی

چکیده

آرتمیزینین ماده‌ای با خاصیت ضد مالاریایی است که در گیاه *A. annua* L. به‌طور طبیعی وجود دارد. در این پژوهش تأثیر برخی از عوامل نظیر بافت خاک، تغذیهٔ معدنی و pH محلول غذایی بر میزان تولید آرتمیزینین مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین مقدار آرتمیزینین در خاک شنی لوم، با ۰/۰۶۵درصد و کمترین مقدار آن در خاک سیلت لوم، با ۰/۰۴۳ درصد مشاهده شد. کمترین مقدار آرتمیزینین تولید شده در محلول غذایی فاقد فسفر مشاهده شد که نسبت به شاهد ۶۳/۸ درصد کاهش نشان می‌دهد. کمترین کاهش تولید آرتمیزینین در محلول غذایی فاقد منیزیم که نسبت به شاهد ۲۲/۵ درصد کاهش دارد مشاهده می‌شود. حداکثر تولید آرتمیزینین در غلظت mgl^{-1} ۲۱۰ نیتروژن محلول غذایی دیده شد. حداکثر تولید آرتمیزینین در pH بین ۶ تا ۷، یعنی در محیط‌های خنثی تا کمی اسیدی اندازه‌گیری شد و در pH= ۶/۵ بیشترین مقدار آن (۰/۰۶۴ درصد) مشاهده گردید.

گل واژگان: گندواش، *Artemisia annua* L.، Artemisinin، بافت خاک، تغذیه معدنی، pH

مقدمه

گیاه *A. annua* L. از خانوادهٔ Asteraceae، گیاهی علفی یکساله، بومی آسیا می‌باشد [۱۹]. از این گیاه به‌عنوان منبع اسانس برای عطرسازی و نیز منبع آرتمیزینین یا به‌عبارتی مهمترین مادهٔ طبیعی ضد مالاریا بعد از کینین استفاده می‌شود [۲۱]. آرتمیزینین یک سزکویی‌ترپن‌لاکتون کمیاب با پراکسید داخلی متعلق به گروه کادینان می‌باشد [٤، ٢٤]. این ترکیب، ترکیب پایه برای ساخت داروهای ضدمالاریایی مؤثر با سمیت کمتر برای انسان است [٥، ٧، ١٢]. با وجودی که ساخت آرتمیزینین در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفته است [٣، ٢٠] بررسی‌ها نشان می‌دهد که گیاه *A. annua* اقتصادی‌ترین منبع آرتمیزینین قابل استفاده می‌باشد [٦، ٨، ٩، ١٠، ١٤، ١٥]. با توجه به گسترش گیاه *A. annua* در مناطق شمالی ایران بر آن شدیم تا به بررسی عواملی نظیر بافت خاک، تغذیهٔ معدنی، و pH محلول غذایی بر میزان تولید آرتمیزینین در این گیاه بپردازیم.

مواد و روش‌ها

الف- تهیه نمونه‌های گیاهی و مکان پژوهش

بذر گیاه *A. annua* از باغ گیاه‌شناسی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، کیلومتر ۱۲ اتوبان تهران- کرج تهیه گردید. این پژوهش در مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم وتحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واقع در حصارک پونک تهران انجام شد.

ب- بررسی مقدار آرتمیزینین موجود در نمونه‌های مورد آزمایش

برای تعیین مقدار کمی آرتمیزینین موجود در نمونه‌های مورد آزمایش از روش Liersch [۱، ۱۸] استفاده گردید:

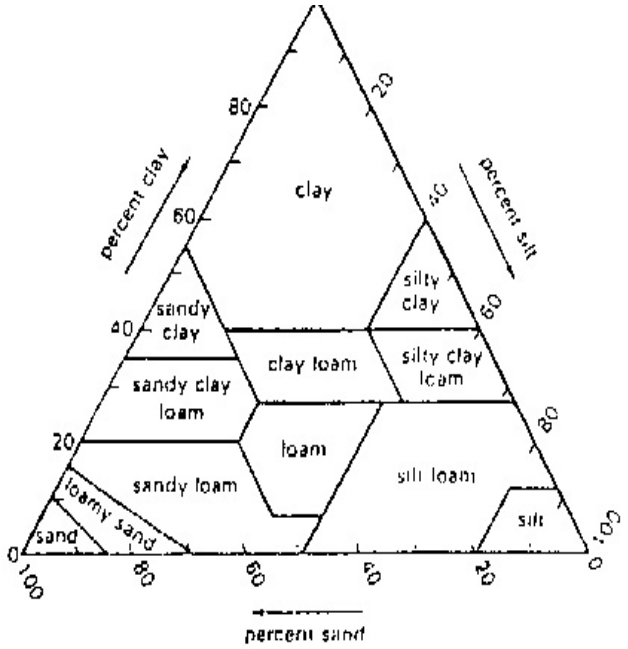
به ۲/۵ گرم از برگ‌های خشک شده گیاه *A. annua* ۲۰۰ میلی‌لیتر پترولیوم اتر اضافه کرده و نمونه به‌مدت ٦ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۳۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از صاف کردن محلول، حلال را تبخیر کرده تا نمونه خشک شود. ٤ میلی‌لیتر اتانول به نمونه اضافه کرده و پس از صاف کردن، باقیمانده توسط ۲ میلی‌لیتر اتانول شسته شد. تمام محلول صاف شده، با اتانول به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول نهایی با ٤ میلی‌لیتر محلول سود ۲ درصد رقیق شده، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم حرارت داده شد. پس از سرد شدن، ۱ میلی‌لیتر اتانول افزوده، با اسید استیک ۰/۲ نرمال به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بدین ترتیب نمونه جهت HPLC آماده گردید. هر نمونه ۳ بار تزریق شد.

ج- بررسی تاثیر بافت خاک بر مقدار آرتمیزینین در گیاه *A. annua*

به‌منظور بررسی تاثیر بافت خاک از سه نوع خاک استفاده شد که خاک‌های شنی لوم (sandy loam)، لوم (loam) و سیلت لوم (Slit Loam) بود. خاکها از رویشگاههای طبیعی این گیاه در مناطق شمالی ایران انتخاب شدند. از هر خاک سه گلدان تهیه شد. ابتدا بذر گیاهان در خاک نرم کشت و سپس گیاهک‌ها به گلدان‌های کوچکی منتقل شدند و پس از مدتی نمونه‌های بهتر به گلدان‌های بزرگ‌تر انتقال پیدا کردند. سنجش کمی آرتمیزینین بعد از ۹۰ روز بر روی این نمونه‌های انجام گرفت. برای تعیین بافت خاک از روش

آمریکایی Janick استفاده شد [۱۳]. به این ترتیب درصد رس، سیلت و شن در خاک‌ها مشخص شد و سپس با استفاده از نمودار مثلثی (تصویر شماره ۱) بافت خاک تعیین گردید. اندازه ذرات خاک برای این بررسی در جدول شماره ۱ آورده شده است.

برای تعیین درصد ذرات مختلف خاک از غربال‌هایی که قطر شبکه‌های آنها مشخص است استفاده می‌شود. مقدار ۱۰۰ گرم از خاک را پس از نرم کردن بر روی این غربال‌ها که بر روی هم قرار گرفته‌اند ریخته و پس از غربال شدن، مقدار ذرات باقیمانده در هر یک را وزن کرده و به این ترتیب درصد ذرات به‌دست می‌آید. حال درصد سیلت، رس و شن را بر روی اضلاع نمودار مثلثی مشخص شده، از هر کدام خطی در جهت خطوط کوچکی که در روی هر ضلع است رسم گشته و نقطه تلاقی آنها در روی مثلث هرجا که باشد، مشخص کننده نوع بافت خاک است.



تصویر شماره ۱- نمودار مثلثی جهت تعیین بافت خاک[۱۳]

جدول شماره ۱- طبقه‌بندی اندازه ذرات خاک

قطر ذره (mm)	نام ذره
۳/۱۰	سنگ‌ریزه
۱-۰/۲۵	شن درشت
۰/۲۵-۰/۰۵	شن متوسط
۰/۰۵-۰/۰۱	سیلت
<۰/۰۱	رس

سه گروه اول مجموعاً درصد شن را تشکیل می‌دهد [۱۳]

در ضمن خاک‌های مورد استفاده از نظر فسفر، پتاسیم و نیتروژن قابل دسترس توسط بخش خاک‌شناسی باغ گیاه شناسی مورد تجزیه قرار گرفت.

د- بررسی اثر تغذیه معدنی بر تولید آرتمیزینین در گیاه *A. annua*

اثر برخی عناصر پر مصرف بر تولید آرتمیزینین مورد بررسی قرار گرفت. کشت گیاه در محلول غذایی بنا به روش‌های به‌کار گرفته شده توسط برخی محققان انجام شد [۱۱، ۲۲]. یک هفته پس از رویش دانه‌ها، گیاهک‌ها به محلول‌های غذایی انتقال یافتند. برای این منظور تعدادی ظروف پلاستیکی یک لیتری ضد عفونی و با آب مقطر شسته شد. سپس گیاهک‌ها به هر ظرف یک لیتری که حاوی یک لیتر محلول غذایی بود انتقال داده شدند. محلول غذایی هر روز توسط پمپ هوادهی، pH آن با استفاده از محلول‌های یک نرمالKCl, KOH در حدود ٦/٥ تنظیم می‌شد. تعویض محلول غذایی هر هفته یک بار انجام می‌شد و زمانی‌که حجم محلول‌ها قبل از تعویض کاهش می‌یافت، کاهش حجم با آب مقطر جبران می‌گردید. روشنایی مورد نیاز توسط ۲ لامپ ۱۰۰ وات معمولی و ٥ لامپ ٤٠ وات فلوئورسنت تامین می‌شد و درکل، شدت نور اتاق کشت توسط نورسنج ١٦/٥ وات بر متر مربع اندازه‌گیری شد. طول دوره‌های روشنایی و تاریکی نیز توسط زمان سنج خودکار، ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد.

محلول کامل غذایی به مدت دو هفته برای تثبیت گیاهان مورد استفاده قرارگرفت و سپس آزمون‌های زیر انجام شد:

محلول کامل، محلول‌های فاقد N، P، K، Ca، Mg، S و محلول دارای N با غلظت ۱۰۵، ۲۱۰ و ۳۱٥ میلی‌گرم در لیتر. جهت تهیه N با غلظت ۱۰۵ و ۳۱٥ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از NH_4NO_3 استفاده شد. ترکیب محلول‌های غذایی در جدول شماره ۲ آورده شده است [۲۲]. هر آزمون شامل ٤ گیاه و ۳ تکرار، و طول مدت آزمایش ۹۰ روز بود [۱۱]. عناصر کم مصرف شامل ترکیبات زیر می‌باشد (gl^{-1}):

H_3BO_3 = ۲/۸٦, $MnCl_24H_2O$= ۱/۸۱, $ZnCl_2$= ۰/۰٤, $H_2MoO_4.H_2O$ = ۰/۰۲

ه- بررسی اثر pH های مختلف محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین

برای این منظور محلول‌هایی با pH های ٥، ٥/۲، ٥/۳، ٥/٤، ٦، ٦/٥، ۷، ۷/٥ و ۸ تهیه گردید. پس از کشت گیاه در محلول‌های فوق به‌مدت ٤ هفته [۱۱، ۲۲] و خشک کردن نمونه‌ها، مقدار آرتمیزینین تولید شده در برگ‌های خشک شده هر نمونه مورد سنجش قرار گرفت.

و- روش تجزیه و تحلیل داده ها

این آزمایش‌های به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هر تیمار انجام گرفت و نتایج با استفاده از نرم‌افزار MSTATC مورد تحلیل آماری قرار گرفت میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون چند دامنهٔ دانکن (DMRT) و آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) مورد مقایسه قرار گرفتند $P<0.05$ به عنوان سطح اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

الف- نتایج مربوط به آزمایش خاک

خاک‌ها از نظر مقدار نیتروژن، پتاسیم و فسفر قابل جذب مورد آزمایش قرار گرفت که نتایج در جدول شماره ۳ آورده شده است.

جدول شماره ۲- ترکیب شیمیایی محلول غذایی (ml^{-1})

Stock(M)	Complete	-N	-P	-K	-Ca	-Mg	-S
KH_2P0_4	۱	۱	–	–	۱	۱	۱
KNO_3	۵	–	۵	–	۵	۳	۳
$Ca(NO_3)_2$	۵	–	۵	۵	–	٤	٤
$MgSO_4$	۲	۲	۲	۲	۲	–	–
KCl	–	۵	۱	–	–	۲	۲
$CaCl_2$	–	۵	–	–	–	۱	۱
$NH_4H_2PO_4$	–	–	–	۱	–	–	–
NH_4NO_3	–	–	–	۲	۵	–	–
$(NH_4)_2SO_4$	–	–	–	–	–	۲	–
$Mg(NO_3)_2$	–	–	–	–	–	–	۲
MICRO	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
Fe-EDTA	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱

جدول شماره ۳- نتایج آنالیز خاک‌ها

نمونهٔ خاک	P	K	N
۱	۹/۰۲۰	۱۰/۳٤۰	۰/۰۲۸
۲	٤/٦٦۰	۱۱/۲٦۰	۰/۰۹٦
۳	٤/۵۸۰	۱۳/۷۹۰	۰/۰۷۱

* مقادیر برحسب *ppm* می‌باشند

همان‌طور که در جدول فوق مشخص شده است مقدار نیتروژن در خاک نمونه ۲، پتاسیم در خاک نمونه ۳ و فسفر در خاک نمونه ۱ بیشتر از بقیه خاک‌ها می‌باشد.

بافت خاک‌ها نیز با استفاده از نمودار مثلثی تعیین شد که نتایج در جدول شماره ٤ آورده شده است. آنالیز بافت خاک نشان داد که خاک شماره ۱ از نوع سیلت لوم، شماره ۲ از نوع شنی لوم و شماره ۳ از نوع لوم بود.

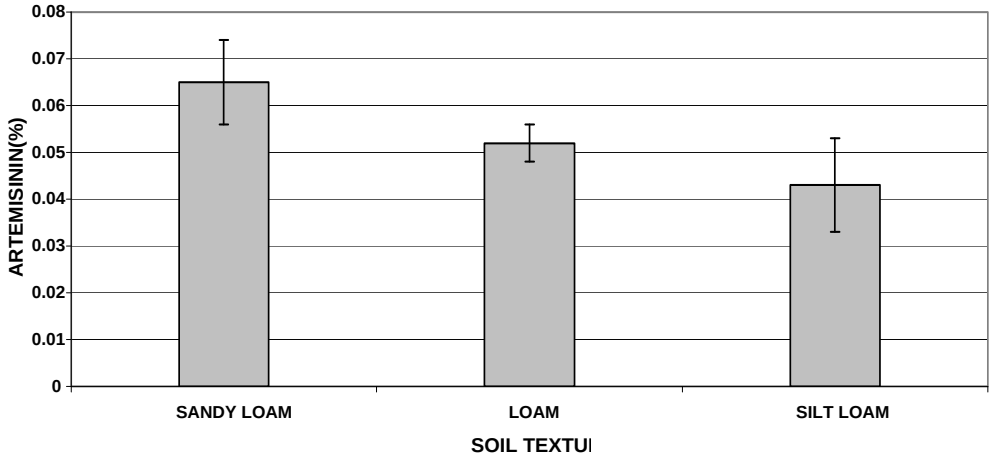
ب- نتایج اثر بافت خاک بر مقدار آرتمیزینین در گیاه *A. annua*

نتایج مربوط به بررسی اثر بافت خاک بر روی مقدار آرتمیزینین گیاه *A. annua* در تصویر ۲ آورده شده است. بیشترین مقدار آرتمیزینین در بافت شنی لوم با ۰/۰٦۵ درصد و کمترین مقدار آرتمیزینین در بافت سیلت لوم با ۰/۰٤۳ درصد مشاهده می‌شود. نتایج آنالیز واریانس داده‌های مربوط به تاثیر بافت خاک بر مقدار آرتمیزینین نشان می‌دهد که تفاوت‌های مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) نمی‌باشد.

جدول شماره ۴- نتایج مربوط به بافت خاک

نمونهٔ خاک	رس	سیلت	شن	بافت خاک
۱	۲٤	٥۲	۲٤	سیلت لوم
۲	۱٤	۲٦	٦۰	شنی لوم
۳	۱۸	۳۲	٥۰	لوم

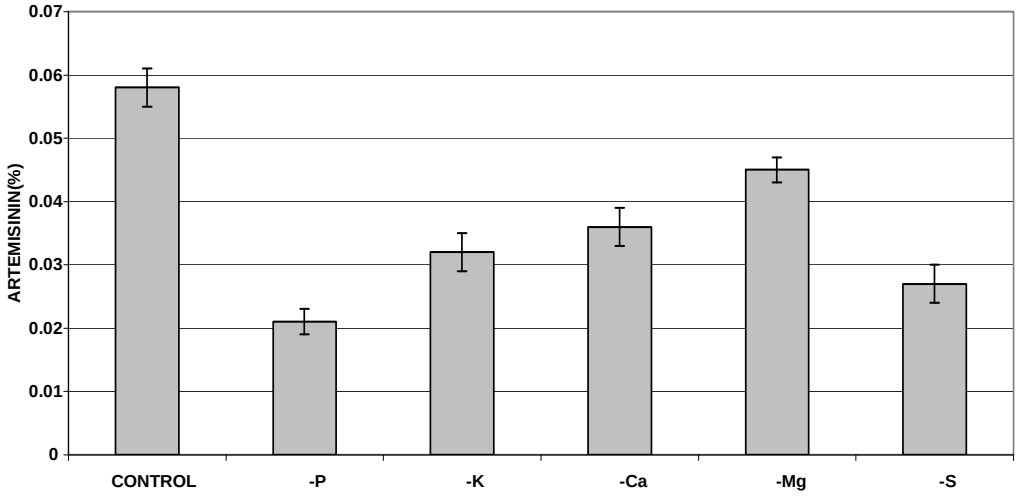
* مقادیر به درصد می‌باشد



تصویر شماره ۲- اثر بافت خاک بر مقدار ارتمیزینین درگیاه *A. annua*

ج- نتایج بررسی اثر تغذیه معدنی بر تولید آرتمیزینین

نتایج مربوط به بررسی مقدار آرتمیزینین تولید شده در محلول‌های غذایی در تصویر شماره ۳ نشان داده شده است. مقدار آرتمیزینین تولید شده در محلول غذایی کامل (شاهد) ۰/۰۵۸ درصد می‌باشد. کمترین مقدار آرتمیزینین تولید شده در محلول غذایی فاقد فسفر با ۰/۰۲۱ درصد بود که نسبت به شاهد ٦۳/۸ درصد کاهش را نشان می‌دهد. کمترین کاهش تولید آرتمیزینین در محلول غذایی فاقد منیزیم با تولید ۰/۰٤٥ درصد آرتمیزینین دیده می‌شود که نسبت به شاهد۲۲/٥ درصد کاهش دارد. محلول‌های غذایی فاقد کلسیم، پتاسیم و گوگرد به ترتیب ٤٥، ۳۸ و ٥۳/٥ درصد کاهش تولید آرتمیزینین نسبت به شاهد را نشان می دهند. نتایج آنالیز واریانس داده‌های مربوط به اثر تغذیه معدنی بر تولید آرتمیزینین نشان می‌دهد که تفاوت‌های مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار ($P < ۰/۰٥$) می‌باشد. اثرات کمبود پتاسیم، کلسیم و منیزیم در یک گروه آماری و اثرات کمبود فسفر و گوگرد در گروه آماری دیگر قرار دارند.



تصویر شماره ۳- اثر کمبود مواد معدنی در محلول‌های غذایی بر مقدار آرتمیزینین در گیاه *A. annua*

د- نتایج بررسی اثر تغییرات نیتروژن محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین

اثر غلظت‌های ۱۵۰،۲۱۰ و۳۱۵ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین در تصویر شماره ٤ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که در غلظت‌های ۱۵۰،۲۱۰ و ۳۱۵ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن، تولید آرتمیزینین به ترتیب ۰/۰۳۱، ۰/۰۵۲ و۰/۰۲٦ درصد می‌باشد. بیشترین مقدار تولید آرتمیزینین در غلظت ۲۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن با ۰/۰۵۲ درصد است. کمترین مقدار آرتمیزینین اندازه‌گیری شده در غلظت ۳۱۵ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن با ۵۰ درصد کاهش نسبت به غلظت ۲۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن می‌باشد. همچنین مقدار آرتمیزینین اندازه‌گیری شده در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن، ٤۰/٤ درصد کاهش نسبت به غلظت ۲۱۰ میلی‌گرم در لیتر را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس داده‌های مربوط به اثر تغییرات نیتروژن محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین نشان می‌دهد که تفاوت‌های مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) نمی‌باشد.

ه- نتایج بررسی اثر pHهای مختلف محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین

بررسی اثر pH های مختلف محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین نشان می‌دهد که در pH=٦/٥ محلول غذایی بیشترین اثر را در تولید آرتمیزینین دارد. در این pH مقدار تولید آرتمیزینین ۰/۰٦٤ درصد می‌باشد. کمترین مقدار آرتمیزینین تولید شده در pH=۰/۸، ۰/۰۲۱ درصد می‌باشد که نسبت به pH=٦/٥، ٦۷/۱ درصد کاهش را نشان می‌دهد. همچنین مقدار تولید آرتمیزینین در کمترین pH یعنی ٥، ۰/۰۲٤ درصد اندازه‌گیری شد که نسبت به pH=٦/٥ ، ٦۲/٥ درصد کاهش را نشان می‌دهد.

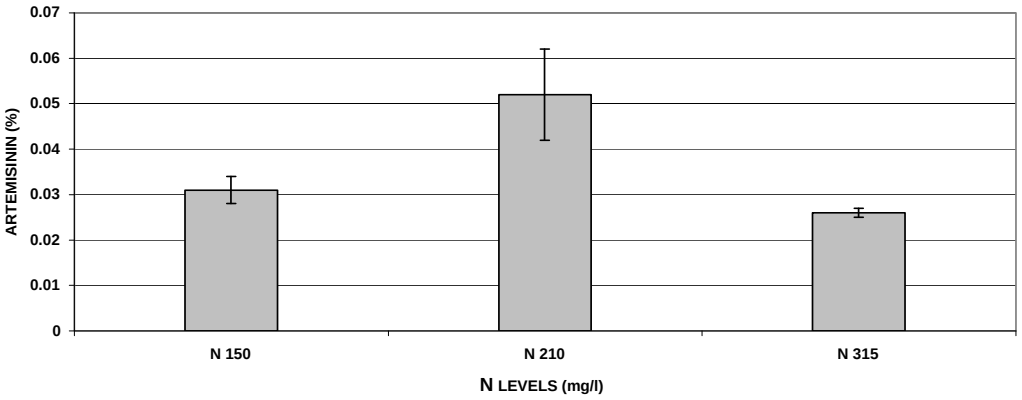
با توجه به تصویر شماره ٥ مشاهده می‌شود که حداکثر تولید آرتمیزینین در pH بین ٦ تا ۷ یا به عبارتی محیط‌های خنثی تا کمی اسیدی می‌باشد.

محیط‌های قلیایی و اسیدی موجب کاهش تولید آرتمیزینین می‌شوند. نتایج آنالیز واریانس داده‌های مربوط به اثر pHهای مختلف محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین معنی‌دار ($P<0/05$) می‌باشد.

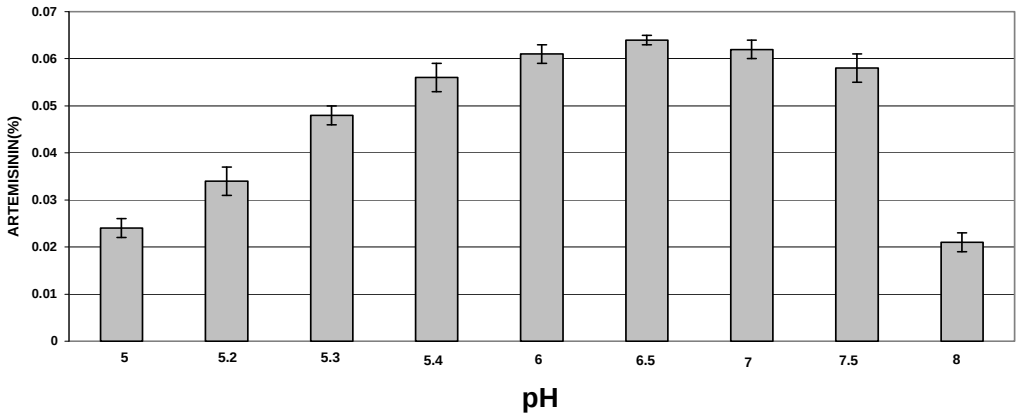
بحث

جهت بررسی اثر بافت خاک بر میزان تولید آرتمیزینین در گیاه *A. annua*، بافت خاک‌های مورد استفاده با روش Janick و همکاران تعیین شدند که نتیجه عبارت بود از: سیلت لوم، شنی لوم و لوم [۱۳].

نتایج این بررسی نشان داد که بیشترین مقدار آرتمیزینین در خاک شنی لوم با ۰/۰۶۵ درصد و کمترین مقدار آرتمیزینین در خاک سیلت لوم با ۰/۰۴۳ درصد می‌باشد. نتایج آنالیز واریانس داده‌های مربوط به تاثیر بافت خاک بر مقدار آرتمیزینین نشان می‌دهد که تفاوت‌های مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد.



تصویر شماره ۴- اثر غلظت‌های مختلف نیتروژن محلول غذایی بر مقدار آرتمیزینین درگیاه *A. annua*



تصویر شماره ۵- اثر pH های مختلف محلول غذایی بر مقدار آرتمیزینین در گیاه *A. annua*

بررسی‌های انجام شده توسط Laughlin در سال ۱۹۹۳ در منطقه شمال غربی تاسمانیا در استرالیا نشان داد که در خاک رسیِ لوم با pH=۸/۵ ، و فسفر و پتاسیم قابل جذب به ترتیب ۵۰ و۲۵۰ قسمت در میلیون (ppm)، مقدار آرتمیزینین گیاه *A. annua* ۰/۰۷ درصد می‌باشد [۱۶، ۱۷]. همچنین اثر عناصر موجود در خاک‌ها نشان می‌دهد که در خاک شنی لوم که مجموع نیتروژن، فسفر و پتاسیم کمتری دارد، بیشترین مقدار آرتمیزینین دیده می‌شود. در خاک سیلت لوم که مجموع نیتروژن، فسفر و پتاسیم بیشتری دارد، کمترین مقدار آرتمیزینین مشاهده می‌گردد. در این بافت خاک مقدار فسفر بیش از خاک‌های دیگر می‌باشد. مطالعات انجام شده توسط مسعودی نشان می‌دهد در خاکی که دارای نیتروژن، فسفر و پتاسیم کمتری است زمان گل‌دهی و محصول گل ۳۷/۷ درصد افزایش دارد [۲].

مقدار آرتمیزینین تولید شده در محلول‌های غذایی کامل (شاهد) و تیمار (فاقد عناصر) مورد بررسی قرار گرفت. کمترین مقدار آرتمیزینین تولید شده در محلول غذایی فاقد فسفر که نسبت به شاهد ۶۳/۸ درصد کاهش نشان می‌دهد دیده شد. کمترین کاهش تولید آرتمیزینین در محلول غذایی فاقد منیزیم که نسبت به شاهد ۲۲/۵ درصد کاهش دارد مشاهده شد. اثرات کمبود پتاسیم، کلسیم و منیزیم محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین در یک گروه آماری، و اثرات کمبود فسفر و گوگرد بر تولید آرتمیزینین نیز در یک گروه آماری قرار دارند. نتایج آنالیز واریانس داده‌های مربوط به اثر تغذیه معدنی بر تولید آرتمیزینین نشان می‌دهد که تفاوت‌های مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد.

مطالعات انجام شده توسط Figueira در سال ۱۹۹۶ نشان می‌دهد که کمبود فسفر محلول غذایی بیشترین اثر را در کاهش تولید آرتمیزینین داشته است، در حالی‌که کمبود منیزیم کمترین اثر را در تولید آرتمیزینین نشان می‌دهد [۱۱]. نتایج بررسی اخیر نیز منطبق با نتایج Figueira می‌باشد.

بررسی اثر تغییرات نیتروژن محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین در گیاه *A. annua* نشان می‌دهد که حداکثر تولید آرتمیزینین در غلظت ۲۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن می‌باشد. با افزایش غلظت نیتروژن محلول غذایی به ۳۱۵ میلی‌گرم در لیتر، ۵۰ درصد کاهش آرتمیزینین نسبت غلظت ۲۱۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن در گیاه *A. annua* مشاهده می‌شود.

نتایج آنالیز واریانس داده‌های مربوط به اثر تغییرات نیتروژن محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین در گیاه *A. annua* نشان می‌دهد که تفاوت‌های مشاهده شده از نظر آماری برای تولید آرتمیزینین معنی‌دار نمی‌باشد.

نتایج بررسی اخیر منطبق با نتایج مطالعات Figueira می‌باشد [۱۱]. به‌علاوه Figueira در نتایج خود بیان می‌دارد که فقدان نیتروژن و فسفر به طور قابل ملاحظه‌ای بر رشد گیاه و تولید وزن خشک موثر بوده است. همچنین تولید آرتمیزینین و اسید آرتمیزینیک، محصولی که می‌تواند به آرتمیزینین تبدیل شود، در ارتباط با مقادیر مختلف عناصر غذایی مورد مطالعه می‌باشد [۲۳]. بررسی نتایج مربوط به اثر pHهای مختلف محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین نشان می‌دهد که حداکثر تولید آرتمیزینین در pH بین ۶ تا ۷ یعنی محیط‌های خنثی تا کمی اسیدی می‌باشد. در pH=۶/۵ بیشترین مقدار آرتمیزینین (۰/۰۶۴درصد)

مشاهده می‌شود. محیط‌های قلیایی و اسیدی موجب کاهش تولید آرتمیزینین می‌شوند. به‌طوری‌که کمترین مقدار آرتمیزینین در pH= ۸ (۰/۰۲۱ درصد) می‌باشد و نسبت به pH=٦/٥، ٦٧/١ درصد کاهش را نشان می‌دهد. در pH=٥ مقدار آرتمیزینین اندازه‌گیری شده ۰/۰۲٤ درصد بود که نسبت به pH=٦/٥، ٦٢/٥ درصد کاهش دارد. نتایج آنالیز واریانس داده‌های مربوط به اثر pHهای مختلف محلول غذایی بر تولید آرتمیزینین معنی‌دار می‌باشد.

در سال ۱۹۹۳، Laughlin اثر pHهای مختلف خاک را بر تولید آرتمیزینین در گیاه *A. annua* مورد بررسی قرار داد [١٦، ١٧]. نتایج بررسی‌های وی نشان داد که حداکثر آرتمیزینین تولید شده در pH=٥/٢ خاک (۰/۲۲ درصد) و کمترین مقدار آرتمیزینین تولید شده در pH=٥ (۰/۱٥ درصد) و pH=٨/٢ (۰/١٦درصد) بود. مقدار آرتمیزینین تولید شده در pHهای ٤/٣، ٥/٥ و ٦ ثابت و ۰/۲۱ درصد اندازه‌گیری شد. در pH=٧/٤ خاک مقدار آرتمیزینین ۰/۲ درصد نشان داده شد.

با توجه به گسترش گیاه *A. annua* در مناطق شمالی ایران و نتایج حاصل از این بررسی، می‌توان نتیجه گرفت که با تغییر برخی از شرایط محیطی، بازده تولید مادهٔ ضد مالاریایی آرتمیزینین افزایش می‌یابد. جا دارد تا شرکت‌های داروسازی کشور توجه بیشتری به گیاهان دارویی، از جمله گیاه *A. annua* جهت تهیهٔ فرآوردهای دارویی معطوف دارند.

تشکر و قدردانی

در پایان لازم است از زحمات آقایان دکتر مصطفی عبادی، کامبیز لاریجانی، خانم‌ها عاطفه سانقی، بهناز ذوالقدر و مسؤولین مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم وتحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران تشکر و قدردانی نماییم.

منابع

۱. لاری یزدی حسین، خاوری نژاد رمضانعلی، روستائیان عبدالحسین. بررسی کمی مادهٔ ضدمالاریایی آرتمیزینین (Artemisinin) در عصارهٔ گیاه گندواش (*A. annua* L.) مناطق شمالی ایران. فصلنامهٔ گیاهان دارویی. بهار ۱۳۸۱، شمارهٔ دوم، صفحات ٤١-٣٧.

۲. مسعودی عبدالناصر. بررسی تاثیر عوامل خارجی بر روی کیفیت و کمیت اسانس گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) و برخی جنبه‌های کاربردی آن. پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شمال تهران ۱۳۷۱-۷۲.

3. Avery MA, Chong WKM and Jennings-White C. Stereoselective total synthesis of (+)-artemisinin, the antimalarial constituent of *Artemisia annua* L. *J. Am. Chem. Soc*. 1992; 114:974-9.

4. Brown GD. Annulide, a sesquiterpene lactone from *Artemisia annua*. *Phytochem.* 1993a; 32:391-3.

5. Bryson CT and EM. Croom Jr EM. Herbicide inputs for a new agronomic crop, annual wormwood (*Artemisia annua*). *Weed Technol.* 1991; 5:17-124.

6. Delabays NA, Benakis A and Collet G. Selection and breeding for high artemisinin (qinghaosu) yielding strains of *Artemisia annua*. *Acta. Hort*. 1993; 330:203-7.

7. Duke SO, Paul Jr RN and Lee SM. Terpenoids from the genus Artemisia as potential pesticides. pp: 318-34. In, Cutler HG (ed.), Biological active natural products: potetial use in agriculture. ACS Symp. Series 380. Am. Chem. Soc., Washington. DC. 1998.

8. Elhag HM, El-Domiaty M, El-Feraly FS, Mossa JS and El-Olemi MM. Selection and micropropagation of high artemisinin producing clones of *Artemisia annua* L. *Phytother. Res.* 1992; 6:20-4.

9. Ferreira JFS and Janick J. Production and detection of artemisinin from *Artemisia annua*. *cta Hort.* 1995b; 390:41-9.

10. Ferreira JFS and Janick J. Roots as an enhancing factor for the production of artemisinin in shoot cultures of *Artemisia annua*. *Plant, Cell, Tissue Organ Cult.*1996b; 44:211-17.

11. Figueria GM. Mineral nutrition, production, and artemisinin content in *Artemisia annua* L. *Acta Hort.* 1996; 426:537-77.

12. Jain DC, Miathur AK. Isolation of high artemisinin yielding clones of *A. annua* L. *Phytochemistry*, 1996; 43: 993-1001.

13. Janick C Plant science. An introduction to world crops. Freeman and Co. San Francisco.1975.

14. Klayman DL. Weeding out malaria. *Nat. Hist. Oct.*1989;18-26.

15. Klayman DL. *Artemisia annua*: From weed to respectable antimalarial plant. pp: 242-55. In: Kinghorn AD and Balandrin MF (eds.), Human medicinal agents from plants. *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* Washington, DC. 1993.

16. Laughlin JC. Effect of agronomic practices on plant yield and antimalarial constituents of *Artemisia annua* L. *Acta. Hort.*1993; 331:53-61.

17. Laughlin JC. Agricultural production of artemisinin: A review. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1994; 88 (Suppl.1):21-2.

18. Liersch R, Soicke H, Stehr C and Tullner HU. Formation of artemisinin in *Artemisia annua* during one vegetation period. *Planta Med.* 1986; 52:387-90.

19. Mc Vaugh R. In: Anderson WR (ed.). Flora Novo-Galiciana: A descriptive account of the vascular plants of Wetern Mexico, Vol. 12(Compositae). Univ. of Michigan Press, Ann Arbor. 1984.

20. Ravindranathan T, Kumar MA, Menon RB and Hiremath SV. Stereoselective synthesis of artemisinin+. *Tetrahedron Lett.*1990; 31:755-8.

21. Riddle JM and Estes JW. Oral contraceptives in ancient medieval times. *Am. Scient.*1992; 80:226-33.

22. Sarruge JR. Soluqbes nutritivas. *Summa Phytopathologica* 1975; 1:223-33.

23. Srivastava NK and Sharma S. Influence of micronutrient imbalance on growth and artemisinin content in *Artemisia annua. Indian J. Pharm. Sci*.1990; 52:225-7.

24. Woerdenbag HJ, Pras N, Van Uden W, DeBoer A, Batterman S, Visser JF Malingre TM. High peroxidase activity in cell cultures of *Artemisia annua* with minute artemisinin contents. *Nat. Prod. Lett.* 1992; 1:121-8.