اثرات ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی کافئین بر فعالیت‌آنزیمی، نشت الکترولیت و رشد چند گونه گیاهی

مسعود حیدری زاده*، عادل محمدی و شهناز زارعی

ایران، سنندج، دانشگاه کردستان، دانشکده علوم پایه، گروه علوم زیستی

تاریخ دریافت: ۹۸/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۸/۵

چکیده

کافئین(تری متیل گزانتین) آلکالوئیدی مشتق از ترکیبات پورینی است. سنتز کافئین در گیاهان یک مکانیزم دفاعی در برابر آفت‌ها و عوامل آسیب‌رسان است. در این پژوهش اثر کافئین بر نشت یونی و فعالیت آمیلازی بررسی و اثرات ضدباکتریایی، آنتی اکسیدانی و دگرآسیبی کافئین در گندم، جو و کنجد مقایسه و ارزیابی گردید. طراحی آزمایش با روش فاکنوریل و در نظرگرفتن دو عامل گونه(گندم، جو، کنجد) و غلظت‌های کافئین(۲/۰، ۱/۰، ۰۵/۰ و ۰۲۵/۰ میلی‌مولار) انجام و معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها با آزمون دانکن ارزیابی گردید. نتایج نشان داد کافئین ۰/۲ میلی‌مولار همه شاخص‌های رشد (طول برگ، طول ریشه-چه، وزن برگ و وزن ریشه‌چه) هر سه گونه را کاملا متوقف می‌نماید. در غلظت‌های پائین کافئین، حساسیت و مقاومت این سه گونه تفاوت معنی دار نشان می‌دهد. کاهش شاخص‌های (جوانه‌زنی‌کل، سرعت‌جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی) نشان داد جو بیشتر از گندم به کافئین حساس می‌باشد. در این مطالعه کافئین اثر ضد باکتریایی معنی‌داری نشان نداد. ویژگی آنتی‌اکسیدانی کافئین قابل توجه و معنی‌دار بود. کافئین ۲۰mM هدایت الکتریکی محلول پیرامونی بذر و ریشه‌چه گندم و جو را افزایش داد. افزایش هدایت الکتریکی محیط پیرامونی بافت زنده می‌تواند نتیجه آسیب به تمامیت غشاهای سلولی و نشت الکترولیت‌ها باشد. کافئین فعالیت آمیلازی را با الگوی غیروابسته به غلظت به طور معنی‌دار مهار نمود. کافئین مهارکننده فعالیت آمیلازی بوده، اثرات دگرآسیبی نسبتاً قوی، اثر ضدباکتریایی نسبتاً ضعیف و ویژگی آنتی‌اکسیدانی قابل توجه دارد. مطالعات دگرآسیبی و ضدمیکروبی کافئین در زمینه کنترل علفهای‌هرز و آفات می‌تواند نتایج کاربردی داشته باشد. ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی کافئین نیز در درمان و داروسازی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. با بررسی اثر کافئین بر نشت الکترولیت‌ها و فعالیت آمیلازی، شناخت و درک مکانیسم‌های سلولی اثرات زیستی کافئین بهبود خواهد یافت.

واژه های کلیدی: جوانه زنی، دگرآسیبی، فعالیت آمیلازی، کافئین، هدایت الکتریکی

* نویسنده مسئول، تلفن: **۰۹۱۸۳۷۸۰۵۴۳**، پست الکترونیکی: m.haidarizadeh@uok.ac.ir

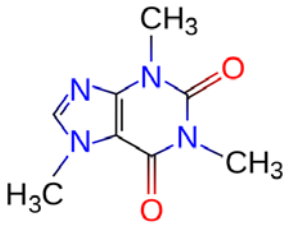
مقدمه

استفاده‌ی بی‌رویه از سموم، حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها باعث آسیب به محصول، خاک، آب، جانوران و خود انسان شده و با برهم زدن روابط طبیعی در اکوسیستم یک بحران زیست‌محیطی ایجاد کرده است. بررسی روابط آللوپاتیک و دگرآسیبی در بین گیاهان و استفاده از متابولیت‌های ثانویه ی طبیعی دارای ویژگی دگرآسیبی می‌تواند جایگزین مناسبی برای این مواد شیمیایی مضر باشد (۱۶ و ۱۸).

کافئین $C_8H_{10}N_4O_2$(۱،۳،۷ تری متیل گزانتین) (شکل۱)، آلکالوئیدی مشتق از ترکیبات پورینی است که در بیش از - صد گونه گیاهی یافت می‌شود. کافئین خالص پودری سفید رنگ و تلخ است. دانه‌ی قهوه منبع اصلی کافئین می‌باشد. کافئین مهارکننده قدرتمند آنزیم‌های فسفودی‌استراز نوکلئوتیدی حلقوی است. این آنزیم‌ها پیام‌رسانهای ثانویه درون سلولی همچون cAMP را غیرفعال می‌سازند. مقدار

کافئین در مواد غذایی بسیار متغیر است (۷). کافئین اولین بار توسط یک شیمیدان آلمانی به نام فردیناند فریدریش رانگ (۱۸۱۹) جداسازی شد.

کافئین در برخی موارد به عنوان محرک و در مواردی هم به عنوان مهار کننده رشد عمل می‌کند. اثرات آللوپاتیک کافئین هم درون و هم برون گونه‌ایی است. کافئین و سیتوکینین‌ها ساختار مولکولی مشابه داشته و از مشتقات ترکیبات پورینی هستند. در برخی مطالعات اثرات شبه سیتوکینینی کافئین گزارش گردیده است (۱۰و ۱۹). کافئین در گیاهان به عنوان آفت‌کش عمل کرده، این ماده‌ی تلخ باعث دور شدن، مرگ یا فلج شدن حشراتی می‌شود که از گیاه تغذیه نموده یا به آن حمله می کنند (۶ و ۱۳).



شکل۱- ساختار مولکولی کافئین $C_8H_{10}N_4O_2$ (۱،۳،۷ تری متیل گزانتین)(۱۲)

از کافئین در مهار جوانه زنی بذرها استفاده می‌شود. مهار جوانه‌زنی توسط کافئین به توانایی آن در مهار میتوز نسبت داده می‌شود (۱۰و۱۱). در یک پژوهش، چوو و همکاران (۱۹۸۰) کافئین و چندین ترکیب دیگر را در عصاره آبی برگ، ساقه و ریشه گیاه قهوه(*Coffea Arabica*) شناسایی کرده و نشان دادند این عصاره به طور معنی‌دار جوانه‌زنی بذر و رشد ریشه‌چه سه گیاه علف چمنی(Rye grass)، کاهو(*Lactuca sativa*) و علف بره(*Festuca pratensis*) را مهار می‌نماید (۸). در پژوهشی دیگر، مونتز زاوالا و همکاران (۲۰۱۳) اثر دو غلظت ۲/۲۵ µM و ۹µM کافئین را بر عملکرد، ضخامت پوست و بافت مغز میوه هندوانه (*Citrullus lanatus*) ارزیابی کرده و نشان دادند کافئین بر عملکرد، کیفیت میوه، محتوای مواد محلول، pH و ثبات بافت مغز میوه اثر معنی‌داری نداشته ولی بر ضخامت پوست میوه تأثیر معنی‌داری دارد (۱۳). در این پژوهش اثر کافئین بر رشد و جوانه‌زنی بذر گندم، جو و کنجد بررسی گردید. در پژوهشی دیگر رامان ویسینی و همکاران (۲۰۰۳) اثرات ضدباکتریایی کافئین در برابر *اشریشیا کولی* و *پسدوموناس فلورسنس* را گزارش نمودند (۱ و ۱۵).

آمیلاز در آندوسپرم نشاسته‌ای دانه‌ها توسط دو بافت سپر (اسکوتلوم) و لایه آلورون ترشح می‌شود. آمیلاز نشاسته را تجزیه و انرژی لازم برای جوانه‌زنی بذر را فراهم می‌کند. آمیلازها از آنزیم‌های فعال و ضروری در فرایند جوانه‌زنی و رشد اولیه دانه‌رست‌ها هستند (۲). نتایج تحقیق فرهودی و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد عصاره *کنگرفرنگی*(*Cynara scolymus*) بر فعالیت آلفا آمیلاز ریزوم *اویلارسلام ارغوانی*(*Cyperus rotundus*) تأثیر داشته و باعث کاهش جوانه‌زنی ریزوم و رشد گیاه‌چه شده است (۹). در این پژوهش اثر غلظتهای مختلف کافئین بر فعالیت آمیلازی بررسی شد.

در زمینه اثرات‌زیستی و دگرآسیبی کافئین سوالات متعددی هنوز بدون پاسخ می‌باشند. آیا اثرات دگرآسیبی کافئین در گیاهان مختلف با هم متفاوت است؟ به عبارت دیگر آیا پاسخ گیاهان مورد مطالعه به کافئین تفاوت معنی‌داری با هم دارد؟ اثرات دگرآسیبی کافئین با کدام مکانیسم ها ایجاد می‌شوند؟ اثر کافئین بر نشت یونی ریشه و بذر در گونه-های مورد مطالعه چگونه است؟ کافئین چگونه بر فعالیت آمیلازی اثر می‌گذارد؟ آیا می‌توان از کافئین برای کنترل آفات، جانوران و میکروارگانیزم‌ها و همچنین علف‌های هرز آسیب‌رسان به گیاهان زراعی و باغی استفاده کرد؟ در این پژوهش آزمایش‌هایی برای یافتن پاسخ سوالات فوق طراحی گردیدند.

در این تحقیق اثرات ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و اثر کافئین بر رشد و جوانه‌زنی بذر گندم، جو و کنجد بررسی و مکانیسم اثرات مهاری با بررسی اثر کافئین بر نشت

یونی، هدایت الکتریکی و فعالیت آمیلازی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

اثرات آللوپاتی کافئین: بذرهای گواهی شده گندم (*Triticum aestivum L.*) واریته‌ی پیشگام، جو(*Hordeum vulgare*) واریته‌ی آبیدر و کنجد (*Sesamum indicum*) از مرکز تحقیقات کشاورزی سنندج تهیه گردیدند. در مرحله نخست از کافئین(Merck) محلول‌هایی با غلظت(۵،۱۰،۲۰ و۵/۲میلی‌مولار) و در مرحله بعد محلول‌هایی با غلظت (۲/۰، ۰/۱، ۰۵/۰ و ۰۲۵/۰میلی‌مولار) از کافئین تهیه گردید. بذرهای گندم، جو و کنجد به ترتیب با وزن-(۰/۰۵۷±۰۰۱/۰)، (۰/۰۴۸±۰۰۱/۰) و (۰/۰۳۴±۰۰۱/۰) گرم انتخاب گردیدند. به منظور ضدعفونی کردن، بذرها ابتدا با آب مقطر شستشو و به مدت ۲۰ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد قرار داده شدند. سپس دوباره با آب مقطر شستشو و به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵/۱ درصد قرار داده شدند. مجدداً بذرها با آب مقطر شستشو و در پنج عدد پتری‌دیش بر روی کاغذ صافی ضدعفونی شده کشت گردیدند. در هر پتری‌دیش از هر بذر هشت عدد، با فاصله تقریباً مساوی قرار داده شد. به هر پتری‌دیش ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه شده کافئین اضافه گردید. پتری‌دیش‌ها با پارافیلم بسته و به مدت هشت روز در اتاقک رشد قرار داده شد. دستگاه اتاقک رشد با دوره نوری ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی، دمای روزانه ۲۵ و شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۷ درصد تنظیم شد (۱۷). بعد از هشت روز، طول برگ، طول ریشه‌چه، وزن برگ و وزن ریشه‌چه‌ی گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد.

اثرکافئین بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای گندم، جو و کنجد: هدف از انجام این آزمایش ارزیابی اثر کافئین بر شاخص‌های جوانه زنی‌کل (Total germination)، سرعت جوانه‌زنی (Speed of germination) و ضریب سرعت جوانه زنی(Coefficient of the rate of germination) می‌باشد. از بذرهای گندم، جو و کنجد هر کدام ۲۵عدد با وزن (گندم (g)۰/۰۰۱ ±۰/۰۵۰، چاودار(g) ۰/۰۰۱± ۰/۰۳۸ و کنجد (g) ۰۰۱/۰±۰/۰۳۴) انتخاب شدند. بذرها و پتری‌دیش‌ها با هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد ضد عفونی و با آب مقطر چندین بار شستشو گردیدند. در هر پتری-دیش ۲۵ عدد بذر با فاصله مساوی قرار داده شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. غلظت ۰/۲ میلی مولار کافئین به عنوان تیمار و آب مقطر به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. به هر پتری‌دیش ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه شده کافئین اضافه شد. پتری‌دیش‌ها با پارافیلم بسته و در اتاقک رشد با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی، و دمای روزانه ۲۵ و شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۷ درصد قرار داده شدند. روزانه به مدت هشت روز دانه‌های جوانه‌زده شمارش شدند. بذرهایی که ریشه‌چه آن‌ها یک میلی‌متر باشد به عنوان جوانه‌زده در نظر گرفته شدند. برای محاسبه شاخص‌های جوانه‌زنی از فرمول‌های ذیل استفاده شد (۱۴).

جوانه‌زنی کل $TG = \frac{NT}{N} \times 100$

N تعداد کل بذرها، NT تعداد بذرهای جوانه‌زده در آخرین روز اندازه‌گیری

$S=(N_1\times 1) + (N_2 - N_1) \times \frac{1}{2} + (N_3 - N_2) \times \frac{1}{3} + \ldots + (N_n - N_{n-1}) \times \frac{1}{n}$ سرعت جوانه زنی

N_n تعداد بذر های جوانه‌زده در روز

$CRG = \frac{N_1 + N_2 + N_3 + \ldots + N_n}{(\text{تعداد بذر جوانه‌زده در روز اول} + \text{تعداد بذر جوانه‌زده در روز دوم} + \ldots + \text{تعداد بذر جوانه‌زده در روز آخر})} \times 100$

ضریب نسبی جوانه‌زنی

Nn تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز n، Tn شماره روز n

اثرات ضدباکتریایی کافئین: اثرات ضدباکتریایی به روش چاهک (Well method) ارزیابی گردید. سوسپانسیون میکروبی معادل ۵/۰ مک فارلند ($۵/۱\times۱۰^{۸}\ \frac{CFU}{ml}$) تهیه و

کشت یکنواختی از باکتری در محیط مولرهینتون آگار انجام گردید. در سطح محیط کشت چاهک‌هایی به قطر پنج میلی‌متر ایجاد و ۱۲ میکرولیتر از عصاره آبی برگ و ریشه *فرولا اوپودا* **و** کافئین۲۰ میلی مولار در چاهک‌ها افزوده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد قرارگرفت. پس از این مدت قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری و حساسیت یا مقاومت باکتری به غلظت‌های مختلف کافئین مشخص شد. بررسی فعالیت ضدباکتریایی به روش انتشار دیسک (Disk diffusion) نیز انجام شد. ابتدا از باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* سوسپانسیون میکروبی ۵/۰ مک‌فارلند تهیه گردید. با ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده در سطح محیط مولرهینتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. سپس دیسکهای آغشته به محلول‌های مورد نظر (عصاره آبی برگ و ریشه *فرولا اوپودا* **و** کافئین۲۰ میلی مولار کافئین) با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت روی سطح محیط کشت قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری و قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری گردید (۵).

درصد قطر نسبی ناحیه مهار به عنوان یک شاخص فعالیت ضد میکروبی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$(\%)\ RIZD = (IZD_{zon\ diameter} - IZD_{negative\ control}) / IZD_{zon\ diameter}$$

RIZD (Relative inhibitory zone diameter) درصد قطر نسبی ناحیه مهار و IZD (Inhibitory zone diameter)، قطر ناحیه مهار بر حسب میلی‌متر است (۵). نتایج در شکل۴ نشان داده شده است.

ویژگی آنتی‌اکسیدانی کافئین: DPPH (۱و۱ دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل) از رادیکال‌های آزاد پایدار است. در این روش توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط عصاره، از روی میزان تغییر رنگ محلول از ارغوانی به زرد سنجیده می‌شود. بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف کافئین (۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی مولار) با سه میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت۱۵۰میکرومولار) مخلوط شد. از غلظت‌های ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی مولار آسکوربیک اسید (ویتامین C) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. هر نمونه در سه تکرار ارزیابی گردید. جذب نمونه‌ها بعد از۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر(مدل Unico 2100) در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. تمام مراحل آزمایش در تاریکی و دمای ۲۵درجه سانتی‌گراد انجام شد. درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH به روش زیر محاسبه شد (۲۰).

$$\text{درصدمهار}\ (\%) = \{(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}\}$$

$A_{control}$، جذب واکنش کنترل شامل تمام واکنشگرها به جز نمونه مورد آزمایش است. A_{sample} جذب نمونه مورد آزمایش است.

اثر کافئین بر نشت الکترولیت (Electrolyte leakage) بذر و ریشه‌چه گندم: هدف از انجام این آزمایش اندازه گیری نشت‌یونی ریشه‌چه و بذر گندم بعد از قرار گرفتن در غلظت‌های مختلف کافئین می‌باشد. برای ارزیابی نشت الکترولیت، یک گرم از بذر گندم (۲۰عدد) با محلول هیپوکلریت ۱/۵درصد ضدعفونی شده و چندین بار با آب مقطر شستشو و در فالکون قرارگرفتند. سه تیمار این آزمایش شامل محلول ۰/۲ میلی‌مولار کافئین، ۲۰میلی‌مولار کافئین و آب مقطر تهیه شدند. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. از هر تیمار۲۰ میلی‌لیتر به بذرهای موجود در فالکون اضافه شد. هر نیم ساعت یک بار تا ۴/۵ ساعت در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد هدایت‌الکتریکی محلول توسط کنداکتیویتی‌متر (هدایت سنج) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری نشت‌الکترولیت ریشه‌چه، بعد از ضدعفونی کردن و شستشو با آب مقطر، در هر پتری‌دیش ۲۰ عدد بذرگندم را قرار داده و پتری‌دیشها را در اتاقک رشد با شرایط استاندارد گذاشته شده تا ریشه‌چه کاملاً رشد کند. بعد از رشد کامل ریشه‌چه، دانه رستها به گونه-

ایی که فقط ریشه‌چه در معرض تیمار باشد قرار داده شدند. از غلظت‌های (۰/۲میلی‌مولار، ۲۰میلی مولار کافئین و آب مقطر) به مقدار ۲۰ میلی‌لیتر به هر ظرف اضافه شد. قابلیت هدایت محلول توسط هدایت سنج (کنداکتیویتی متر) مدل (inolab-IDS,Multi9310) هر نیم‌ساعت یک‌بار تا ۴/۵ ساعت در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه-گیری شد (۴).

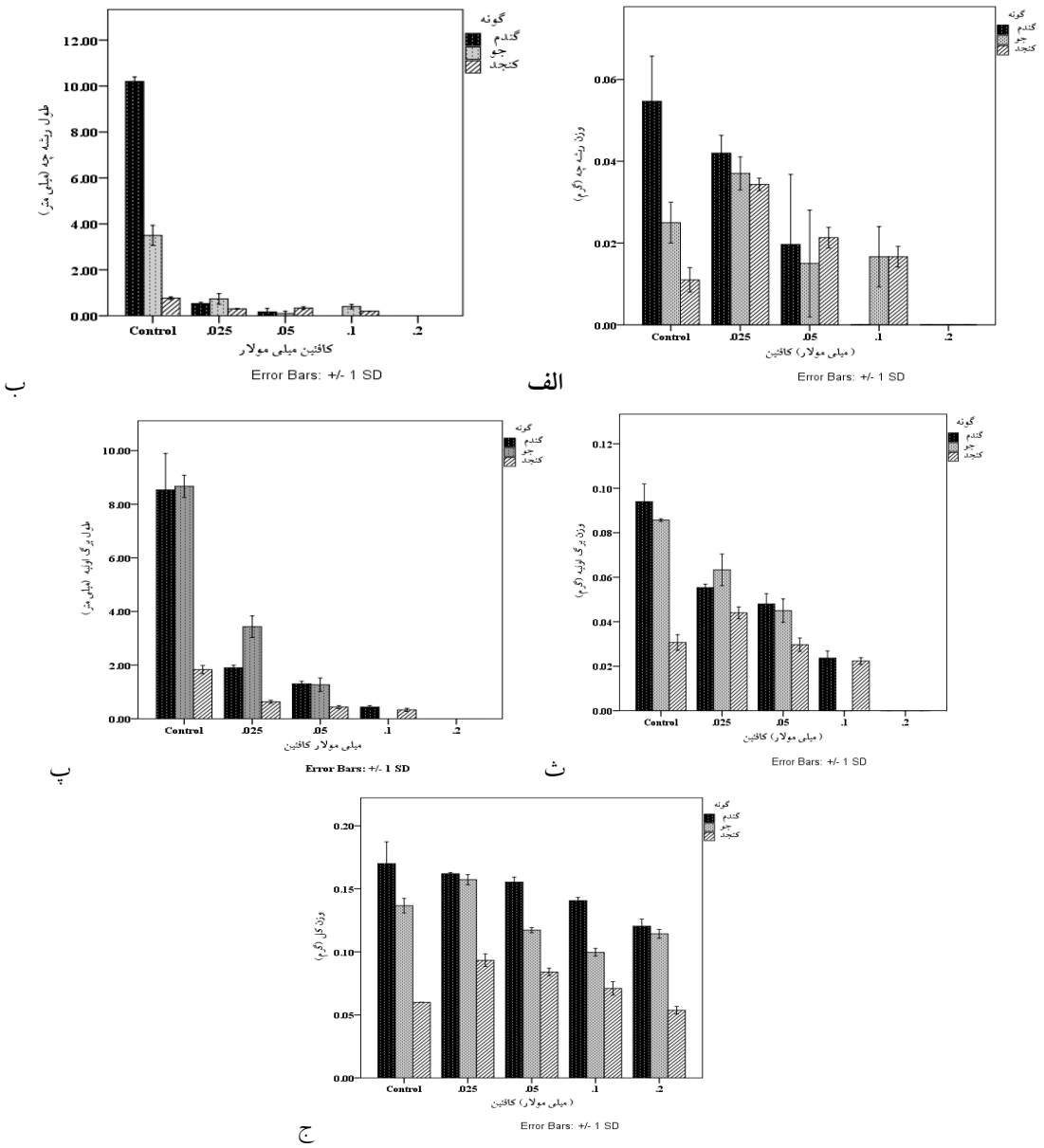
اثر کافئین بر فعالیت آمیلازی دانه‌رست‌ها: آمیلازها از آنزیم‌های لازم برای جوانه‌زنی بذر می‌باشند. در این آزمایش، اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر فعالیت آمیلازی عصاره آنزیمی بذر گندم واریته‌ی پیشگام بررسی شد. مواد، محلول‌ها و معرفهای مورد نیاز براساس دستورالعمل تهیه گردیدند. چسب نشاسته با اضافه کردن ۲/۰ گرم نشاسته به ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر در حال جوش و هم زدن کامل آن تهیه شد، پس از حل شدن کامل نشاسته در آب مقطر، حجم آن به ۵۰ میلی‌لیتر رسید. بافراستات نیز با اضافه کردن ۱۵۸ میلی‌لیتر استات سدیم (۲/۰ مولار) به ۴۲ میلی-لیتر محلول اسید استیک (۲/۰ مولار تهیه گردید، pH بافر تهیه شده در ۲/۵ باید ثابت باشد. معرف لوگول نیز تهیه گردید. عصاره آنزیمی حاوی آمیلاز از بذرهای جوانه‌زده چهار روزه در شرایط استاندارد و استریل، با روش زیر استخراج گردید. جهت استخراج عصاره آنزیمی ۱۵ عدد از بذرهای جوانه‌زده گندم (فقط دانه) را جدا نموده با ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی ساییده و مخلوط شیری رنگ را بعد سه تا چهار دقیقه صاف کرده و از محلول صاف شده یک میلی‌لیتر برداشته و در یک بالن ژوژه حجم آن را با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده می‌شود. عصاره حاصل محتوی آنزیم آمیلاز می‌باشد. pH مناسب فعالیت آنزیم آمیلاز ۵ تا ۵/۵ می‌باشد. جهت سنجش فعالیت آن، pH محیط در این محدود ه باید تثبیت گردد. به منظور تهیه نشاسته بافری، برای هر گروه آزمایشی سه میلی‌لیتر از چسب نشاسته به ۲۷ میلی‌لیتر بافر استات اضافه و به عنوان مخلوط واکنش از آن استفاده شد. مخلوط واکنش شامل پنج لوله آزمایش به ترتیب محتوی پنج میلی لیترمحلول ۰، ۲/۵، ۵،۱۰ و ۲۰میلی‌مولار کافئین تهیه شدند. به همه لوله-های آزمایش پنج میلی‌لیتر نشاسته بافری و پنج میلی‌لیتر عصاره آنزیمی اضافه گردید. بعد از مدت زمان آزمایش (۱۵ دقیقه) به همه لوله‌های آزمایش پنج قطره معرف لوگل اضافه گردید. لوله‌ها را خوب تکان داده تا محتویات آن یکنواخت شود. لوگول فرایند آنزیمی را متوقف می‌کند. لوگول بعد از واکنش با نشاسته رنگ آبی تیره ایجاد می-نماید. جذب نور محلول‌های مذکور در طول موج ۶۴۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل Unico 2100) اندازه‌گیری گردید (۲). آزمایش در سه تکرار برای هرکدام از لوله‌های فوق انجام گرفت.

روش آماری: تحلیل داده ها با نرم افزار Spss21 انجام شد. آنالیز واریانس تغییرات میانگین‌ها با روش فاکنوریل و در نظر گرفتن دو عامل گونه و غلظت‌های مختلف کافئین انجام و معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها با آزمون دانکن ارزیابی گردید.

نتایج

اثر آللوپاتی: کافئین در غلظت‌های ۲۰، ۱۰، ۵ و ۵/۲ میلی مولار باعث مهار کامل جوانه‌زنی و رشد بذرهای گندم، جو و کنجد شد. بنابراین محلولهایی با غلظتهای کمتری از کافئین تهیه و اثرات آنها بر شاخص‌های رشد و جوانه زنی ارزیابی گردید. کافئین در غلظت‌های پایین‌تر (۲/۰، ۱/۰، ۰۵/۰ و ۰۲۵/۰ میلی‌مولار) باعث کاهش طول و وزن ریشه‌چه و برگچه و وزن‌کل دانه‌رست‌ها شد (شکل۲). نمودار الف(شکل۲) اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر وزن ریشه‌چه سه گونه گندم، جو و کنجد را نشان می‌دهد. غلظت ۰۲۵/۰ کافئین وزن ریشه‌چه جو و کنجد را افزایش داد. غلظت۱/۰، ۰۵/۰ کافئین به طور نسبی و غلظت ۲/۰ کافئین بطور کامل وزن ریشه‌چه هر سه گونه را کاهش داد. نمودارب(شکل۲) اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر طول ریشه‌چه گندم، جو و کنجد را نشان می‌دهد. کافئین

بصورت معنی‌دار بیشترین اثر مهارکنندگی را بر طول ریشه‌چه نشان داد. به نظر می‌رسد طول ریشه‌چه بیشترین حساسیت را به کافئین نشان می‌دهد. نمودارپ(شکل۲) اثر غلظت‌های مختلف کافئین را بر طول برگچه گندم، جو و کنجد نشان می‌دهد. طول برگچه نیز به کافئین حساسیت نشان می‌دهد. نمودارث(شکل۲) اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر وزن برگچه گندم، جو و کنجد را نشان می‌دهد. نمودارج (شکل۲) اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر وزن کل دانه‌رست‌های گندم، جو و کنجد را نشان می‌دهد.



شکل۲- اثر غلظتهای مختلف کافئین برطول و وزن (ریشه چه، برگچه) و وزن‌کل دانه‌رستهای گندم، جو و کنجد

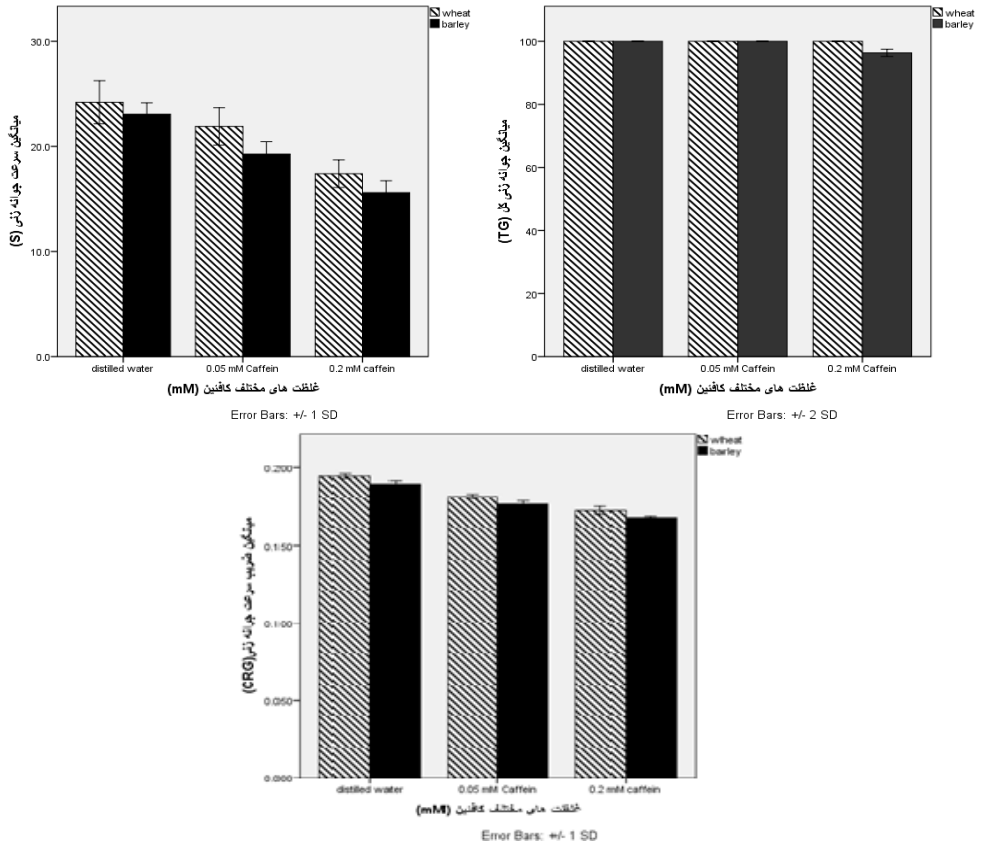
نمودارهای شکل۲ و جدول ۱ نشان می‌دهند که کافئین بیشترین تأثیر را بطور معنی‌دار هم در سطح ۵ درصد و هم در سطح ۱درصد بر طول ریشه‌چه و طول برگچه دانه-رست‌ها دارد. کمترین اثرپذیری نیز در وزن‌کل دانه‌رست‌ها مشاهده می‌شود. غلظت ۰/۲ کافئین همه شاخص‌ها جز وزن کل را کاملاً متوقف کرد. به دلیل در نظر گرفتن وزن باقیمانده بذر در شاخص وزن کل دانه‌رست تغییرات این شاخص با تغییرات شاخص‌های دیگر متفاوت است. به نظر می‌رسد شاخص‌هایی که طول را ارزیابی می‌نمایند، (طول ریشه‌چه و طول برگچه) حساسیت بیشتری به کافئین نسبت به شاخص‌های وزنی مانند وزن کل، وزن برگچه و وزن ریشه‌چه نشان می‌دهند. در شاخص‌های وزنی امکان خطای آزمایشی به دلیل در نظر گرفتن وزن‌تر بیشتر است. آنالیز واریانس(جدول۱) تغییرات شاخص‌های رشد دانه رست‌های گندم، جو و کنجد تحت تأثیر پنج غلظت کافئین نشان می‌دهد که هر دو عامل غلظت کافئین و گونه‌های مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری هم در سطح یک درصد و هم در سطح پنج درصد بر تغییرات هر پنج متغیر وزن کل، وزن برگچه، وزن ریشه چه، طول ریشه چه و طول برگچه نشان داده‌اند (جدول۱). در مورد متغیر وزن ریشه‌چه عامل گونه‌های مورد مطالعه نیز در سطح یک درصد معنی دار است. آزمون دانکن در مورد همه متغیرها با گروه‌بندی عامل غلظت کافئین در پنج گروه تفاوت معنی‌دار اثر غلظت کافئین را تأیید می نماید. در مورد گونه های گندم، جو و کنجد آزمون دانکن در همه متغیرها بجز طول برگ اولیه و وزن ریشه چه عاملی، گونه را در سه گروه طبقه بندی نمود، یعنی حساسیت و مقاومت گونه‌ها نسبت به کافئین با هم تفاوت معنی‌دار دارد.

جدول ۱- آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر شاخص‌های رشد دانه‌رست‌های گندم، جو وکنجد

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		طول ریشه چه	وزن ریشه چه	وزن برگ اولیه	طول برگ اولیه	وزن کل
گونه S	۲	۲۶/۸۶۷ **،*	۰/۰۰۰۴ **	۰/۰۰۳ **،*	۳۶/۷۶۸ **،*	۰/۰۴۷ **،*
غلظت کافئین Ca	۴	۱۵۳/۰۶۱ **،*	۰/۰۰۸ **	۰/۰۲۹ **،*	۲۴۱/۹۵۲ **،*	۰/۰۱۰ **،*
S* Ca	۸	۱۱۵/۰۹۱ **،*	۰/۰۰۳ **	۰/۰۰۶ **،*	۶۸/۳۶۸ **،*	۰/۰۰۴ **،*
خطا	۳۰	۰/۰۶۷۳ **،*	۰/۰۰۱ **	۰/۰۰۰۸ **،*	۴/۶۲۰ **،*	۰/۰۰۱ **،*

**،* به ترتیب معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

اثر بر شاخص‌های جوانه‌زنی: شکل۳ اثر غلظت ۰/۲ و ۰/۰۵ میلی‌مولار کافئین و آب مقطر (کنترل) بر شاخص-های جوانه زنی، بذرهای گندم و جو را نشان می‌دهد. نمودار الف (شکل۳) اثر غلظت ۰/۲ و ۰/۰۵ میلی مولار کافئین بر جوانه زنی کل گندم و جو را نشان می‌دهد. نمودارب (شکل۳) اثر غلظت ۰/۲ و ۰/۰۵ میلی‌مولار کافئین بر سرعت جوانه‌زنی گندم و جو را نشان می‌دهد. کافئین بطور معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سرعت جوانه-زنی بذر گندم و جو را کاهش داده است. اثر کافئین بر کاهش سرعت جوانه‌زنی چاودار نسبت به گندم به طور معنی‌دار بیشتر است. نمودارپ(شکل۳) اثر غلظت ۰/۲ و ۰/۰۵ میلی‌مولار کافئین بر ضریب نسبی جوانه‌زنی گندم و جو را نشان می‌دهد. نسبت به گروه کنترل ضریب‌نسبی-جوانه زنی بذرهای گندم و جو بطور معنی‌دار کاهش نشان داد. کاهش ضریب نسبی جوانه‌زنی جو نسبت به گندم بطور معنی‌دار بیشتر است.

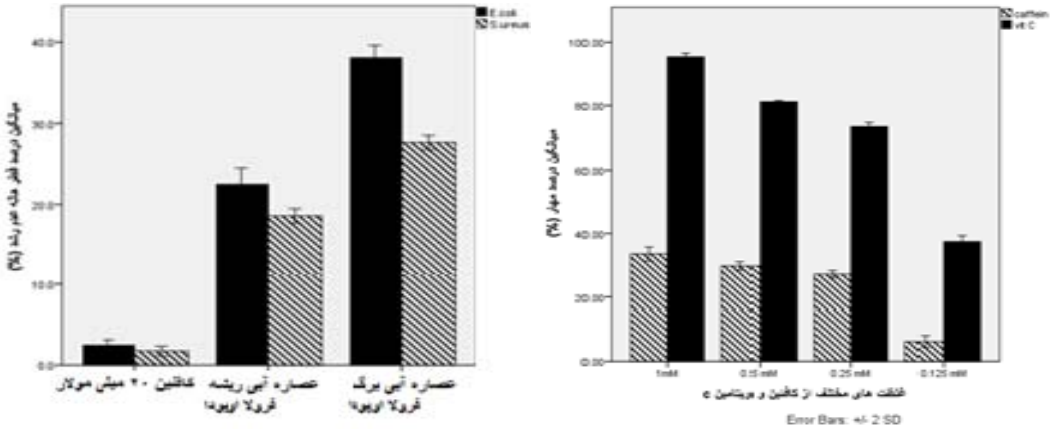


شکل۳- اثر غلظت ۰/۲ و ۰/۰۵ میلی‌مولار کافئین و آب مقطر (کنترل) بر جوانه‌زنی‌کل (الف) سرعت جوانه‌زنی(ب) و ضریب سرعت‌جوانه‌زنی(پ) گندم و جو

اثر آنتی‌اکسیدانی: درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH مبنایی برای ارزیابی ویژگی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. نمودار الف (شکل۴) درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH بر اثر غلظت‌های (۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی‌مولار) از کافئین ویتامین C را نشان می‌دهد. نمودار الف شکل۴ نشان می‌دهد قدرت مهارکنندگی کافئین قابل مقایسه با ویتامین C نبوده و بطور معنی‌دار از آن کمتر است. درصد بازدارندگی بیشتر به معنای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر است. نتایج نشان می‌دهد درصد بازدارندگی و ویژگی آنتی‌اکسیدانی ویتامین C بطور معنی‌دار بیشتر از کافئین است. با افزایش غلظت کافئین بطور معنی‌دار خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی رادیکال DPPH نیز افزایش نشان می‌دهد.

اثر ضد باکتریایی: نمودارب شکل۴، درصد قطر نسبی ناحیه مهار رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشیرشیا کلی* در اثر عصاره آبی برگ و ریشه *فرولا اوپودا* (۵۰گرم بر لیتر) (به عنوان شاهد) را نشان می‌دهد. قطر ناحیه‌ی مهار به معنای خاصیت ضدباکتریایی عصاره می‌باشد. در مورد هر دو باکتری عصاره آبی برگ نسبت به عصاره آبی ریشه اثر مهاری قوی‌تری دارد. قطر ناحیه‌ی مهار و درصد آن در غلظت ۲۰ میلی‌مولار کافئین نشان داد به طور کلی اثر ضد باکتریایی کافئین از عصاره آبی برگ و ریشه *فرولا اوپودا* به عنوان گروه کنترل بطور معنی‌دار کمتر است. همچنین به طور نسبی اثر کافئین بر *اشیرشیا کلی* بیشتر از *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد.

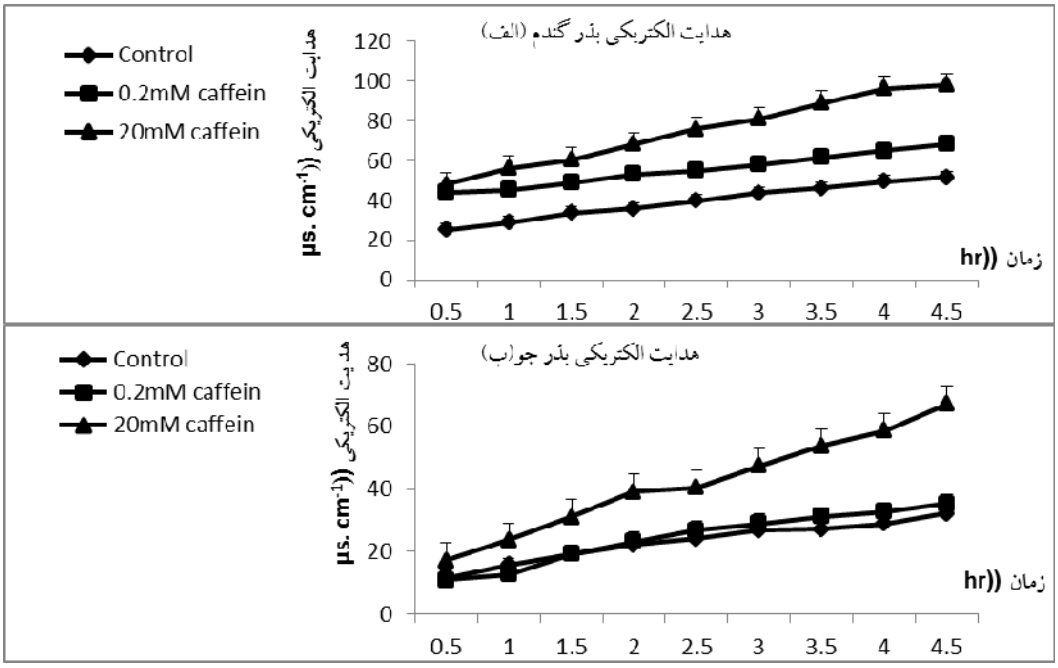
اثر بر نشت الکترولیت و هدایت الکتریکی: شکل۵ اثر غلظت‌های ۲۰ و ۰/۲ میلی‌مولار کافئین بر هدایت الکتریکی محلول پیرامونی بذر گندم (الف)، بذر جو (ب)، ریشه‌چه گندم (ث) و ریشه‌چه جو (پ) را نشان می‌دهد.

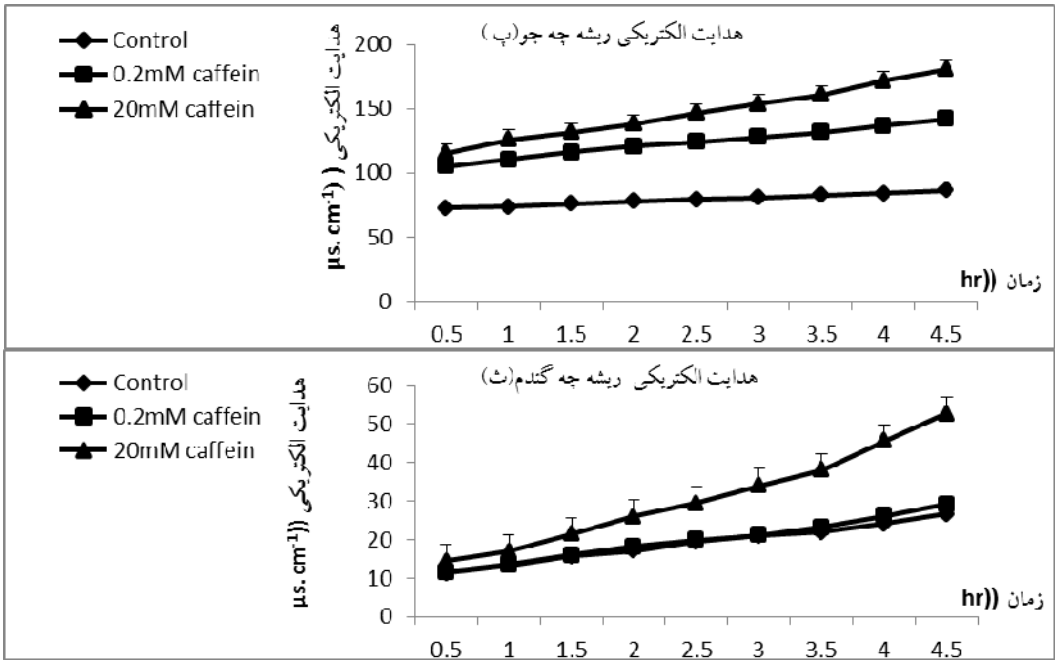


شکل۴- نمودار (الف) اثر غلظت‌های(۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی‌مولار) کافئین و ویتامین C بر درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH را نشان می‌دهد. نمودار (ب) میانگین درصد قطر هاله عدم رشد باکتری *استافیلوکوک اورئوس* و *اشیرشیا کلی* توسط غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ و ریشه *فرولا اوپودا* و کافئین۲۰ میلی‌مولار را نشان می‌دهد.

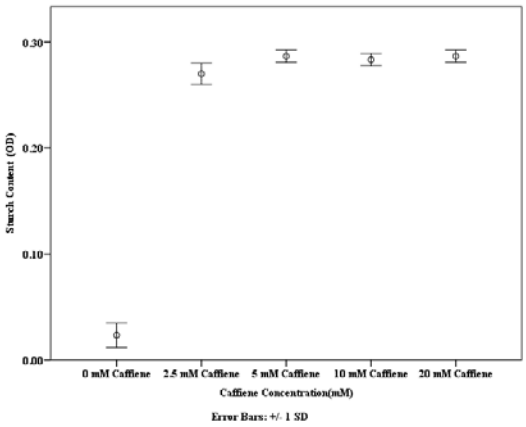
نمودارهای شکل۵ نشان می‌دهند در همه موارد کافئین ۲۰mM هدایت الکتریکی محلول پیرامونی بذر و ریشه‌چه هر دو گونه گندم و جو را افزایش داده است. غلظت ۰/۲mMکافئین (نمودارهای ب،ث) مانند گروه شاهد (آب مقطر) اثری یکسان بر هدایت الکتریکی بذر جو (ب)، و ریشه چه گندم نشان داده است.

اثر کافئین بر فعالیت آمیلازی: لوگول در ترکیب با محلول نشاسته رنگ آبی تیره ایجاد می‌کند. آمیلاز تجزیه نشاسته را کاتالیز می‌نماید. فعالیت بیشتر آنزیم باعث کاهش مقدار نشاسته شده و سبب کاهش رنگ و در نتیجه کاهش میزان جذب نوری در طول موج۶۴۰ نانومتر می‌شود.





شکل۵- اثر غلظت ۲۰ و ۰/۲ میلی‌مولار کافئین و شاهد(آب مقطر) بر هدایت الکتریکی بذر گندم (الف) بذر جو(ب) ریشه‌چه جو(پ) و ریشه‌چه گندم(ث)



شکل ۶- اثرغلظت‌های مختلف کافئین(۲۰، ۱۰، ۵ و ۵/۲ میلی‌مولار) بر فعالیت آمیلازی (عصاره آنزیمی استخراج شده از بذرهای جوانه زده گندم) بر اساس مقدار نشاسته باقیمانده

شکل۶، اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر فعالیت آمیلازی را نشان می‌دهد. در گروه شاهد صفر میلی‌مولار (بدون کافئین) فعالیت آمیلازی آنزیم حداکثر و در نتیجه میزان نشاسته حداقل است. در گروههای تیمار ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵ میلی‌مولار کافئین فعالیت آمیلازی را مهار و در نتیجه نشاسته تجزیه نشده و مقدار آن کاهش نیافته وحداکثری است. تفاوت معنی‌داری بین اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر مهار فعالیت آمیلازی مشاهده نمی‌شود. بررسی اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر فعالیت عصاره آنزیمی استخراج شده از بذرهای گندم نشان داد کافئین اثر مهاری معنی‌داری بر فعالیت آمیلازی دارد.

بحث و نتیجه گیری

پژوهش‌های متعدد نشان می‌دهند که مواد شیمیایی آزاد شده توسط گیاهان و همچنین مواد تجزیه شده گیاهی توانایی کنترل علف‌های هرز را داشته و می‌توانند به عنوان علف‌کش و آفت‌کش طبیعی عمل نمایند (۳). در یک پژوهش چوو و همکاران (۱۹۸۰) کافئین و چندین ترکیب مشابه دیگر را در عصاره آبی برگ، ساقه و ریشه گیاه *قهوه* (*Coffea Arabica*) شناسایی و جداسازی کرده و نشان دادند عصاره آبی ۱ درصد برگ، ساقه و ریشه این گیاه بطور معنی‌دار جوانه‌زنی دانه و رشد ریشه‌چه سه گیاه *علف چمنی*(*Rye grass*)، *کاهو*(*Lactuca sativa*) و *علف بره*(*Festuca pratensis*) را مهار می‌نماید (۸). فریدمن و والر (۱۹۸۳) گزارش کردند کافئین ۱۰ mM باعث مهار

رشد دانه‌رستهای *قهوه* (*Coffea Arabica*) شده، این مهار در مرحله میتوز و تشکیل صفحه سلولی در ریشه‌چه اتفاق می‌افتد (۱۰).

پژوهش‌های متعددی گزارش نموده‌اند که کافئین باعث غیرفعال شدن سیتوکینین‌ها در لپه‌های *تربچه* (*Raphanus Sativus*) شده و در غلظت‌های ۵۰-۲۰۰۰ میکرومولار کافئین کاهش تعداد و طول ریشه‌ها در هیپوکوتیل *ماش*-(*Phaseoulus aureus*) مشاهده نمی‌شود. همچنین کافئین ۱۰۰۰۰-۲۵۰۰۰ میکرومولار باعث کاهش تعداد سلولهای ریشه در دانه‌رست‌های نخود (*Pisum Satiumm*) می‌گردد (۱۳). در جنین‌های در حال رشد دانه‌های قهوه غلظت ۴۰-۶۰ میلی‌مولار کافئین گزارش شده است. به نظر می‌رسد این جنین‌ها نوع ویژه‌ای از توانایی مهار و اجتناب از خودسمیتی نسبت به کافئین را دارا هستند. با رشد طولی ناحیه زیرلپه و هیپوکوتیل، ناحیه تقسیم سلولی نوک ریشه از ناحیه غنی از کافئین اندوسپرم دور شده و تقسیم سلولی در نوک ریشه تحت تأثیر کافئین قرار نمی‌گیرد. بنابراین با جداسازی ناحیه ذخیره کافئین و ناحیه تقسیم سلولی، از اثرات خود سمیتی اجتناب می‌شود (۱۰). در یک پژوهش مونتز زاوالا و همکاران (۲۰۱۳) اثر غلظت ۲/۲۵ µm و ۹ µm کافئین را بر عملکرد، ضخامت پوست و بافت مغز میوه هندوانه (*Citrullus lanatus*) ارزیابی کرده و نشان دادند کافئین تأثیر معنی‌داری بر عملکرد، کیفیت میوه، محتوای مواد محلول، pH و ثبات بافت مغز نداشته ولی بر ضخامت پوست میوه تأثیر معنی‌داری دارد (۱۳). نتایج این پژوهش نشان داد که کافئین در غلظت‌های (۲۰، ۱۰، ۵ و ۵/۲ میلی‌مولار) باعث مهار کامل رشد و جوانه‌زنی بذرهای گندم، جو و کنجد شد. غلظت‌های بیش از ۰/۲ میلی‌مولار کافئین اثرات مهارکنندگی قطعی بر رشد و نمو گیاهان نشان می‌دهند. در این پژوهش غلظت ۰/۲ میلی‌مولار کافئین همه شاخص‌های رشد هر سه گونه گندم، جو و کنجد را کاملاً متوقف نمود. در این غلظت تفاوت معنی داری در حساسیت گندم، جو و کنجد به کافئین مشاهده نشد. در غلظت‌های (۱/۰، ۰۵/۰ و ۰۲۵/۰ میلی‌مولار) در برخی شاخص‌ها تفاوتهایی جزئی و غیر معنی‌داری در پاسخ‌های گندم، جو و کنجد به کافئین مشاهده شد. این نتایج با نتایج چوو و همکاران (۱۹۸۰) که مهارکنندگی عصاره برگ، ساقه و ریشه گیاه *قهوه* (*Coffea Arabica*) محتوی کافئین طبیعی را تایید کردند، همخوانی دارد.

شکل۳ نتایج اثر کافئین بر جوانه‌زنی‌کل، سرعت جوانه‌زنی و ضریب نسبی جوانه‌زنی را نشان می‌دهد. کافئین بیشترین تأثیر را بر سرعت جوانه‌زنی نشان داد. اثر پذیری جوانه‌زنی کل نسبت به کافئین کمترین است. به نظر می‌رسد کافئین فرایندهای متابولیسمی بعد از جوانه‌زنی را بیشتر تحت تأثیر قرار می‌دهد. در هر سه شاخص اثرپذیری و حساسیت جو به کافئین بیشتر از گندم بوده و گندم مقاومت بیشتری به کافئین نشان می‌دهد.

در یک پژوهش رامان ویسینی و همکاران (۲۰۰۳) اثرات ضدباکتریایی کافئین در برابر *اشریشیا کولی* و *پسدوموناس فلورسنس* را بررسی و نشان دادند کافئین در غلظت بالای ۱ درصد محیط کشت، رشد هر دو باکتری را به طور کامل مهار می‌نماید. کافئین در غلظت‌های ۱/۰ و ۰/۵ به طور نسبی رشد را مهار می‌نماید. حساسیت *اشریشیا کولی* نسبت به کافئین به طور معنی‌دار بیشتر از *پسدوموناس فلورسنس* می باشد (۱۵). در یک پژوهش محمد و البیاتی (۲۰۰۹) کافئین طبیعی را از دو گیاه *قهوه* (*Coffea Arabica*) و *چای سبز* (*Camellia Sinensis*) جداسازی و خالص‌سازی کرده و اثرات ضدباکتریایی آن را در برابر شش باکتری بیماری‌زا ارزیابی کردند. نتایج تأیید کننده اثرات ضدباکتریایی کافئین مستخرج از هردو گیاه بود (۱۲). بر مبنای قطر ناحیه‌ی مهار، غلظت ۲۰ میلی‌مولار کافئین، اثر ضدباکتریایی کافئین به طور معنی‌داری از تیمارهای دیگر کمتر بوده می‌توان نتیجه‌گیری کرد کافئین اثر ضدباکتریایی معنی‌داری در این پژوهش نشان نداد. به نظر می‌رسد روش ارزیابی اثرات ضدباکتریایی در این

پژوهش (روش چاهک و روش انتشار دیسک) متفاوت از روش استفاده در محیط کشت رامان ویسینی و همکاران (۲۰۰۳) باشد. استفاده از کافئین صنعتی نیز می‌تواند علت تفاوت نتایج این پژوهش با نتایج محمد و البیاتی (۲۰۰۹) باشد.

آنتی‌اکسیدان‌ها سبب کاهش التهاب و آسیب‌های سلولی می‌شوند. افزایش متابولیسم بدن، تحریک سیستم اعصاب مرکزی و افزایش میزان هوشیاری و آگاهی محیطی از مهم‌ترین آثار کافئین در جانوران است. اثرات لیپولیتیک (تجزیه کنندگی چربی) کافئین و گزانتین (دیگر ترکیب مشتق شده از چای و قهوه) به خوبی ثابت شده و کاملاً شناخته شده است. به این ترتیب، مصرف زیاد گزانتین و کافئین ممکن است به از دست دادن وزن کمک کرده و کاهش وزن از طریق افزایش اکسیداسیون چربی و گرمازایی را در پی داشته باشد. کافئین از جذب مواد معدنی مخصوصاً آهن جلوگیری می‌کند (۷). ویژگی آنتی-اکسیدانی کافئین قابل توجه است. این ویژگی با توجه به افزایش روز افزون استفاده از کافئین در فراورده‌های غذایی می‌تواند با اهمیت تلقی شود. گزارشی در ارتباط با اندازه گیری ویژگی آنتی اکسیدانی کافئین مشاهده نگردید.

نمودارهای شکل ۵ نشان می‌دهند کافئین۲۰mM هدایت الکتریکی محلول پیرامونی بذر و ریشه‌چه گندم و جو را افزایش داده است. افزایش هدایت الکتریکی محیط پیرامونی بافت زنده می‌تواند نتیجه نشت الکترولیت‌ها باشد. نشت الکترولیت می‌تواند تحت تأثیر بر هم خوردن تعادل تبادل یونی روی دهد. متابولیت‌های ثانویه دارای اثر دگرآسیبی مانند کافئین ممکن است با اثر بر تمامیت غشاهای زیستی، نشت الکترولیت‌ها و تغییر هدایت الکتریکی محیط پیرامونی را سبب شوند.

یکی از سازوکارهایی که سبب کاهش جوانه‌زنی بذر می‌گردد، احتمالاً مربوط به کاهش فعالیت آنزیمهایی مانند آلفا آمیلاز است که در جوانه‌زنی بذر نقش دارند. کاهش تقسیمات میتوز در مریستم ریشه، کاهش فعالیت آنزیمهای کاتالیز کننده فرایندهای حیاتی گیاه و اختلال در جذب یونهای معدنی که در حضور آللوکمیکالهایی مانند کافئین رخ می‌دهد، سبب کاهش رشد گیاهچه می‌شود. همچنین ممکن است یکی از مکانیسمهای بازدارندگی کافئین از طریق اثر مهاری بر بیان ژن آنزیم‌هایی مانند آمیلازها باشد. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف کافئین(۲۰، ۱۰، ۵ و ۵/۲ میلی‌مولار) اثر کاهنده معنی‌داری بر فعالیت آمیلازی دارند.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد غلظت ۰/۲ میلی‌مولار کافئین همه شاخص‌های رشد گندم، جو و کنجد را کاملاً متوقف می نماید. در این غلظت تفاوت معنی‌داری در حساسیت گندم، جو و کنجد به کافئین مشاهده نمی‌شود. در غلظت های کمتر حساسیت و مقاومت این سه گونه به کافئین با هم تفاوت معنی‌دار دارد. کافئین بیشترین تأثیر را بر سرعت جوانه زنی نشان می‌دهد. در هر سه شاخص (جوانه‌زنی کل، سرعت جوانه‌زنی و ضریب نسبی سرعت جوانه‌زنی) اثرپذیری و حساسیت به کافئین در جو بیشتر ازگندم می-باشد. اثرات ضدباکتریایی کافئین به طور معنی‌داری از عصاره آبی برگ و ریشه فرولا اوپودا کمتر می‌باشد. می-توان نتیجه‌گیری کرد کافئین اثر ضدباکتریایی معنی‌داری نشان نداد. ویژگی آنتی‌اکسیدانی کافئین قابل توجه است هرچند ویژگی آنتی‌اکسیدانی ویتامین C به طور معنی‌دار بیشتر از کافئین است. کافئین۲۰mM هدایت الکتریکی محلول پیرامونی بذر و ریشه‌چه گندم و جو را افزایش داد. افزایش هدایت الکتریکی محیط پیرامونی بافت زنده می-تواند نتیجه نشت الکترولیت‌ها باشد. نتایج به دست آمده نشان داد که کافئین فعالیت آمیلازی را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. برخی از ویژگی‌های آللوپاتیک کافئین را می‌توان به تأثیر منفی آن بر فعالیت آمیلازی، تمامیت غشاهای سلولی و تحریک نشت متابولیت در بافت‌های

زنده گیاهان رقیب نسبت داد. مطالعات آللوپاتی و ضد-میکروبی کافئین در زمینه کنترل علفهای هرز و آفات می-تواند نتایج کاربردی داشته باشد. نتایج آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی کافئین نیز در درمان و داروسازی می‌تواند مورد استفاده قرارگیرد. با بررسی اثر کافئین بر نشت الکترولیت، هدایت الکتریکی و فعالیت آمیلازی درک مکانیسم‌های سلولی اثرات زیستی کافئین نیز بهبود خواهد یافت.

منابع

۱- آوخ، آ.، رضایی، ک.، و یوسفی وند، ج.، ۱۳۹۳. بررسی علت خاصیت ضدمیکروبی پایین چند آلکالوئید گیاهی (نوسکاپین، کافئین و وینکامین) بر روی سویه‌های مختلف سودوموناس آئروجینوزا با مقاومت چند دارویی (MDR)، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۰(۲)، صفحات ۳۰۹-۳۲۱

۲- خاوری نژاد، ر.، ۱۳۷۸. فیزیولوژی گیاهی عملی، انتشارات امید، صفحات ۲۲۹-۲۳۶.

۳- صفاهانی لنگرودی، ع.، و قوشچی، ف.، ۱۳۹۳. تأثیر عصاره آبی و بقایای چند گونه علف هرز بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گندم، مجله پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران سابق)، (۱) ۲۷، صفحات ۱۰۹-۱۰۰.

4- Abenavoli, M. R., Cacco, G., Sorgona, A., Marabottini, R., Paolacci, A. R., Ciaffi, M., and Badiani, M., 2006. The inhibitory effects of coumarin on the germination of durum wheat (Triticum turgidum ssp. durum, cv. Simeto) seeds, Journal of chemical ecology, 32(2), PP: 489 -99.

5- Ashrafpour, M., Baradaran, M., and Sharifi, H., 2016. Survey of the Antibacterial Properties of Aqueous Ethanolic and Methanolic Extraction of Artemisia Annua Around the City of Babol, Scientific journal of ilam university of medical sciences, 23(6), PP: 129-141.

6- Amiri, A., Fahimi, H., and Saadatmand, S., 2010. Allelopatic effect of caffeine on growth and photosynthetic pigment content and its interaction with salisiylic acid in soybean seedlings Glycine max L. Animal physiology and development, 3, 1, (8), PP:1-9

7- Barone, J. J., and Roberts, H., 1984. Human Consumption of Caffeine. In: Dews P.B. (eds) Caffeine. Springer, Berlin, Heidelberg.

8- Chou, C. H., Waller, G. R., (1980). Possible allelopathic constituents of Coffee Arabica, Journal of Chemical Ecology, 6, 3, PP: 643–654.

9- Farhoudi, R., H., Sohelifar, and Modhej, A., 2016. Allelopathic Effect of Globe Artichoke (Cynara Cardunculus L. Var. Scolymus L. Fiori) Aqueous Extract on Antioxidant Enzymes Activite, Endogenous Phytohormones Concentration and Amylase Activity of Cyperus rotundus Rhizomes, Journal of Plant Process and Function, 5(17), PP: 75-83.

10- Friedman, J., and Waller, G. R., 1983. Caffeine hazards and their prevention in germinating seeds of coffee (Coffea arabica L.), Journal of chemical ecology, 1, 9(8), PP: 1099-106.

11- Mazzafera, P., Olsson, O., and Sandberg, G., 1996. Degradation of caffeine and related methyl xanthines by Serratia marcescens isolated from soil under coffee cultivation, Microb Ecology, 31(2), PP: 199–207.

12- Mohammed, M. and Al-Bayati, F., 2009. Isolation, identification and purification of caffeine from Coffee arabica L. and Camellia sinensis L., A combination antibacterial study. International journal of green pharmacy, 1, 3(1), PP: 52-65.

13- Montes-Zavala, O., Diánez-Martínez, F., and Camacho-Ferre, F., 2013. Effect of caffeine on grafted watermelon crop yields and fruit quality under greenhouse conditions, Journal of Food, Agriculture and Environment, 11(2), PP :784-787.

14- Rashid, M. H., Asaeda, T., and Uddin, M. N., 2010. The allelopathic potential of kudzu (Pueraria montana), Weed Science, 58(1), PP: 47-55.

15- Ramanavičienė, A., Mostovojus, V., Bachmatova, I., and Ramanavičius, A., 2003. Anti-bacterial effect of caffeine on Escherichia coli and Pseudomonas fluorescens, Acta Medica Lituanica, 10 (4), PP: 185-88.

16- Rezaeinodehi, A., Khangholi, S., Aminidehaghi, M, and Kazemi, H., 2006. Allelopathic potential of tea (Camellia sinensis (L.) Kuntze) on germination and growth of Amaranthus retroflexus L., and Setaria glauca (L.) P., Beauv.

ZeitschriftE Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Sonderheft, 20, 447 p.

17- Shahbazi, A., Lotfi, M., Mostafavi, K., Asadian, G., and Heidarian, A. R., 2011. Effect of Persian galbanum (Ferula gummosa L.,) extract on seed germination and growth of some weeds, African Journal of AgriculturalResearch, 6, 22, PP: 5106-5111.

18- Shettel, N. L., and Balke, N. E., 1983. Plant growth response to several allelopathic chemicals, Weed Science, May, 31(3), PP: 293-8.

19- Tanti, A., Bhattacharyya, P. N., Sandilya, S. P., and Dutta, P., 2016. Allelopathic potential of caffeine as growth and germination inhibitor to popular tea weed, Borreria hispida L., Current Life Sciences, 20;2(4), PP: 114-7.

20- Znati, M., Filali, I., Jabrane, A., Casanova, J., Bouajila, J., and Ben Jannet, H., 2017. Chemical Composition and In Vitro Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Antigerminative Properties of the Seed Oil from the Tunisian Endemic Ferula tunetana Pomel ex Batt. Chemistry and biodiversity, 14(1), PP: 85-98.

Antimicrobial, antioxidant and inhibitory effects of caffeine (C8H10N4O2) on enzymatic activity, electrolyte leakage and growth of several plant species

Haidarizadeh M., Mohammadi A. and Zareie S.

Dept. of Biological Science, University of Kurdistan, Sanandaj, I.R. of Iran.

Abstract

Caffeine (trimethyl xanthine) is an alkaloid derived from purine compounds. In plants caffeine synthesis is a protective mechanism of plants against harmful agents. In this study, antibacterial, antioxidant, and caffeine effects on ion leakage, amylase activity and allelopathic effects of caffeine in wheat, barley and sesame were evaluated. The experiment was designed using Factorial method in terms of two factors (wheat, barley, sesame) and caffeine concentrations (0. 025, 0.5, 0.1 and 0.2 mM). The significance of the differences was evaluated by Duncan test. In concentrations of less than 0.2 mM, the sensitivity of these three species to caffeine was significantly different. In Barley Compared to wheat, germination indices (Total germination, Speed of germination and Coefficient of the rate of germination) were more sensitive to caffeine. In this study, caffeine did not showed a significant antibacterial effect. The antioxidant properties of caffeine were also significant. Caffeine (20 mM) increased the electrical conductivity of the peripheral solution of the seeds and root of wheat and barley. The results showed that caffeine inhibits amylase activity, has relatively strong allelopathic effects, a relatively weak antibacterial effect and a significant antioxidant effect. Allopathic and anti-microbial studies of caffeine can be used control weeds and pests and the antioxidant and antimicrobial properties of caffeine can be used in the pharmaceutical industry. Caffeine Effects study on electrolyte leakage, electrical conductivity and amylase activity will improve understanding the cellular mechanisms of these effects.

Key words: Amylase activity, Allelopathy, Electrical conductivity, germination index, Caffeine