

## اثرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی کافئین بر فعالیت آنزیمی، 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 گرانانتین) 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، آنتی‌اکسیدانی و دگرآسیبی کافئین در گندم، جو و کنجد مقایسه و ارزیابی گردید. طراحی آزمایش با روش فاکتوریل و در نظر گرفتن 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 کاملاً متوقف می‌نماید. در غلظت‌های پائین کافئین، حساسیت و مقاومت این سه گونه تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهد. کاهش شاخص‌های (جوانه‌زنی کل، سرعت جوانه‌زنی 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 ضد میکروبی کافئین در زمینه کنترل علف‌های هرز و آفات می‌تواند نتایج کاربردی داشته باشد. ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی 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

کافئین  $C_8H_{10}N_4O_2$  (۱،۳،۷-تری متیل گرانانتین) (شکل ۱)، 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

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).

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 کتجد بررسی گردید. در پژوهشی دیگر رامان ویسینی و همکاران (۲۰۰۳) اثرات ضدباکتریایی کافئین در برابر *اشریشیا کولی* و *پسهوموناس فلورسنس* را گزارش نمودند (۱ و ۱۵).

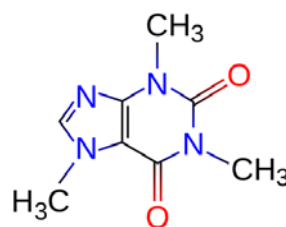
آمیلاز در آندوسپرم نشاسته‌ای دانه‌ها توسط دو بافت سپر (اسکوتلوم) و لایه آلورون ترشح می‌شود. آمیلاز نشاسته را تجزیه و انرژی لازم برای جوانه‌زنی بذر را فراهم می‌کند. آمیلازها از آنزیم‌های فعال و ضروری در فرایند جوانه‌زنی و رشد اولیه دانه‌رست‌ها هستند (۲). نتایج تحقیق فرهودی و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد عصاره کنگرفرنگی (*Cynara scolymus*) بر فعالیت آلفا آمیلاز ریزوم *اوبیلارسلام 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 اثرات زیستی 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 مکانیسم‌ها ایجاد می‌شوند؟ اثر کافئین بر نشت یونی ریشه و بذر در گونه‌های مورد مطالعه چگونه است؟ کافئین چگونه بر فعالیت آمیلازی اثر می‌گذارد؟ آیا می‌توان از کافئین برای کنترل آفات، جانوران و میکروارگانیسم‌ها 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 کتجد بررسی و مکانیسم اثرات مهاری با بررسی اثر کافئین بر نشت

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 (۱۰ و ۱۹). کافئین در گیاهان به عنوان آفت‌کش عمل کرده، این ماده تلخ باعث دور شدن، مرگ یا فلج شدن حشراتی می‌شود که از گیاه تغذیه نموده یا به آن حمله می‌کنند (۶ و ۱۳).



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

از کافئین در مهار جوانه زنی بذرها استفاده می‌شود. مهار جوانه‌زنی توسط کافئین به توانایی آن در مهار میتوز نسبت داده می‌شود (۱۰ و ۱۱). 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  $25 \mu M$  و  $9 \mu M$  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

جوانه زنی (Coefficient of the rate of germination) می‌باشد. از بذرهای گندم، جو و کنجد هر کدام ۲۵ عدد با وزن (گندم)  $0.001 \pm 0.05$  (g)، چاودار  $0.001 \pm 0.001$  (g) و  $0.001 \pm 0.001$  (g) و کنجد  $0.001 \pm 0.001$  (g) انتخاب شدند. بذرهای 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 میلی لیتر از محلول‌های تهیه شده کافئین اضافه شد. پتری‌دیش‌ها با پارافیلیم بسته و در اتاقک رشد با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت 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).

$$TG = \frac{N}{N_0} \times 100$$

$N$  تعداد کل بذرها،  $N_0$  تعداد بذرهای جوانه‌زده در آخرین روز اندازه‌گیری

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

$S$  = سرعت جوانه زنی

$N_n$  تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز

$$CRG = \frac{N_1 + N_2 + N_3 + \dots + N_n}{N_0} \times 100$$

ضریب نسبی جوانه‌زنی

$N_n$  تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز  $n$ ،  $T_n$  شماره روز  $n$

اثرات ضدباکتریایی کافئین: اثرات ضدباکتریایی به روش چاهک (Well method) ارزیابی گردید. سوسپانسیون میکروبی معادل ۵/۰ مک فارلند  $\frac{CFU}{mL} \times 10^8$  تهیه و

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 آیدر و کنجد (*Sesamum indicum*) از مرکز تحقیقات کشاورزی سندج تهیه گردیدند. در مرحله نخست از کافئین (Merck) محلول‌هایی با غلظت (۲۰، ۱۰، ۵) و ۲/۵ میلی‌مولار) و در مرحله بعد محلول‌هایی با غلظت (۲/۰، ۱/۰، ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی‌مولار) از کافئین تهیه گردید. بذرهای گندم، جو و کنجد به ترتیب با وزن- ( $0.001 \pm 0.05$ )، ( $0.001 \pm 0.001$ ) و ( $0.001 \pm 0.001$ ) گرم انتخاب گردیدند. به منظور ضدعفونی کردن، بذرهای 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 بذرهای 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 ۵/۲ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه شده کافئین اضافه گردید. پتری‌دیش‌ها با پارافیلیم بسته و به مدت هشت روز در اتاقک رشد قرار داده شد. دستگاه اتاقک رشد با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت 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.

اثر کافئین بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای گندم، جو و کنجد: هدف از انجام این آزمایش ارزیابی اثر کافئین بر شاخص‌های جوانه زنی کل (Total germination)، سرعت جوانه‌زنی (Speed of germination) و ضریب سرعت

کافئین (۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی مولار) با سه میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت ۱۵۰ میکرومولار) 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 از ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Unico 2100) در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. تمام مراحل آزمایش در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH به روش زیر محاسبه شد (۲۰).

$$\left\{ \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right\} = \text{درصد مهار}$$

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

**اثر کافئین بر نشت الکترولیت (Electrolyte leakage)**  
**بذر و ریشه چه گندم:** هدف از انجام این آزمایش اندازه‌گیری نشت یونی ریشه‌چه و بذر گندم بعد از قرار گرفتن در غلظت‌های مختلف کافئین می‌باشد. برای ارزیابی نشت الکترولیت، یک گرم از بذر گندم (۲۰ عدد) با محلول هیپوکلریت ۱/۵ درصد ضد عفونی شده و چندین بار با آب مقطر شستشو و در فالكون قرار گرفتند. سه تیمار این آزمایش شامل محلول ۰/۲ میلی مولار کافئین، ۲۰ میلی مولار کافئین و آب مقطر تهیه شدند. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. از هر تیمار ۲۰ میلی‌لیتر به بذرها موجود در فالكون اضافه شد. هر نیم ساعت یک بار تا ۴/۵ ساعت در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد هدایت الکتریکی محلول توسط کندانسیمیتری (هدایت سنج) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت ریشه‌چه، بعد از ضد عفونی کردن و شستشو با آب مقطر، در هر پتری‌دیش ۲۰ عدد بزرگندم 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-

کشت یکنواختی از باکتری در محیط مولر هیتون 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 کافئین ۲۰ میلی مولار در چاهک‌ها افزوده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد قرار گرفت. 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 مولر هیتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. سپس دیسک‌های آغشته به محلول‌های مورد نظر (عصاره آبی برگ و ریشه فرولا / اوپودا و کافئین ۲۰ 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:

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

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 شکل ۴ نشان داده شده است.

**ویژگی آنتی‌اکسیدانی کافئین:** DPPH (۱ و ۱ 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

پنج لوله آزمایش به ترتیب محتوی پنج میلی لیتر محلول ۰، ۲/۵، ۱۰، ۵ و ۲۰ میلی مولار کافئین تهیه شدند. به همه لوله‌های آزمایش پنج میلی لیتر نشاسته بافری و پنج میلی لیتر 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. لوگل فرایند آنزیمی را متوقف می‌کند. لوگل بعد از واکنش با نشاسته رنگ آبی تیره ایجاد می‌نماید. جذب نور محلول‌های مذکور در طول موج ۶۴۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل Unico 2100) اندازه‌گیری گردید (۲). آزمایش در سه تکرار برای هر کدام از لوله‌های فوق انجام گرفت.

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

## نتایج

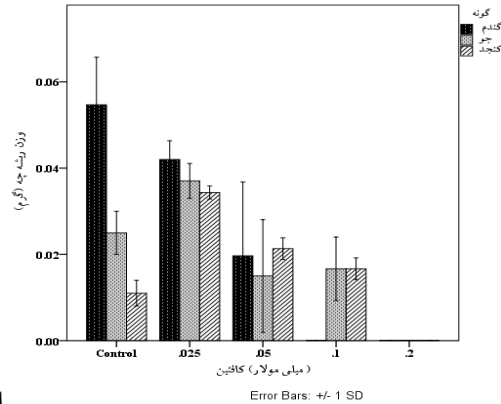
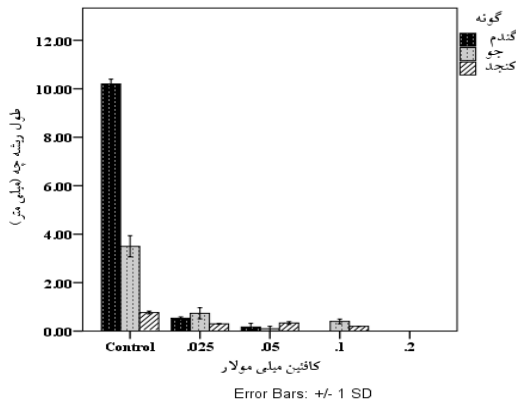
**اثر آللوپاتی:** کافئین در غلظت‌های ۲۰، ۱۰، ۵ و ۵/۲ میلی مولار باعث مهار کامل جوانه‌زنی و رشد بذره‌های گندم، جو و کنجد شد. بنابراین محلول‌هایی با غلظت‌های کمتری از کافئین تهیه و اثرات آنها بر شاخص‌های رشد و جوانه‌زنی ارزیابی گردید. کافئین در غلظت‌های پایین‌تر (۲/۰، ۱/۰، ۰۵/۰ و ۰۲۵/۰ میلی مولار) باعث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

ایی که فقط ریشه‌چه در معرض تیمار باشد قرار داده شدند. از غلظت‌های (۲/۰ میلی مولار، ۲۰ میلی مولار کافئین و آب مقطر) به مقدار ۲۰ میلی لیتر به هر ظرف اضافه شد. قابلیت هدایت محلول توسط هدایت سنج (کنداکتیویتی متر) مدل (inolab-IDS, Multi9310) هر نیم ساعت یکبار تا ۴/۵ ساعت در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری 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 و اریت‌هی پیشگام بررسی شد. مواد، محلول‌ها و معرف‌های مورد نیاز براساس دستورالعمل تهیه گردیدند. چسب نشاسته با اضافه کردن ۲/۰ گرم نشاسته به ۲۵ میلی لیتر 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 میلی لیتر رسید. بافر استات نیز با اضافه کردن ۱۵۸ میلی لیتر 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 لوگل نیز تهیه گردید. عصاره آنزیمی حاوی آمیلاز از بذره‌های جوانه‌زده چهار روزه در شرایط استاندارد و استریل، با روش زیر استخراج گردید. جهت استخراج عصاره آنزیمی ۱۵ عدد از بذره‌های جوانه‌زده گندم (فقط دانه) را جدا نموده با ۱۵ میلی لیتر آب مقطر در هاون چینی ساییده و مخلوط شیری رنگ را بعد سه تا چهار دقیقه صاف کرده و از محلول صاف شده یک میلی لیتر برداشته و در یک بالن ژوژه حجم آن را با آب مقطر به ۵۰ میلی لیتر 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 محدوده باید تثبیت گردد. به منظور تهیه نشاسته بافری، برای هر گروه آزمایشی سه میلی لیتر از چسب نشاسته به ۲۷ میلی لیتر بافر استات اضافه و به عنوان مخلوط واکنش از آن استفاده شد. مخلوط واکنش شامل

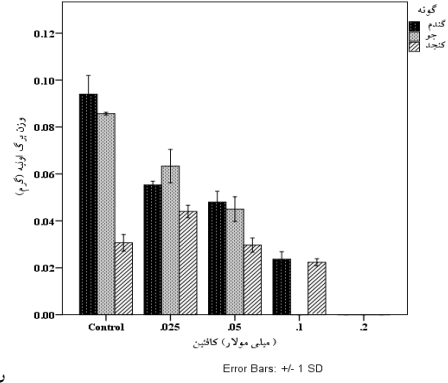
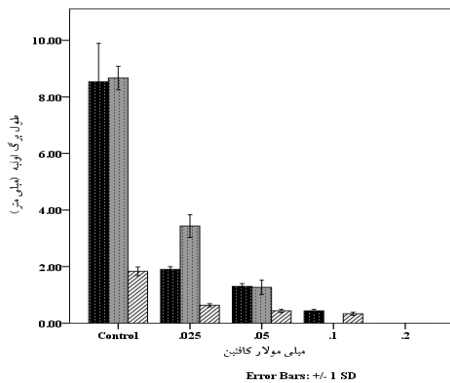
نشان می‌دهد. نمودارث(شکل۲) اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر وزن برگچه گندم، جو و کنجد را نشان می‌دهد. نمودارج (شکل۲) اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر وزن کل دانه‌رست‌های گندم، جو و کنجد را نشان می‌دهد.

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



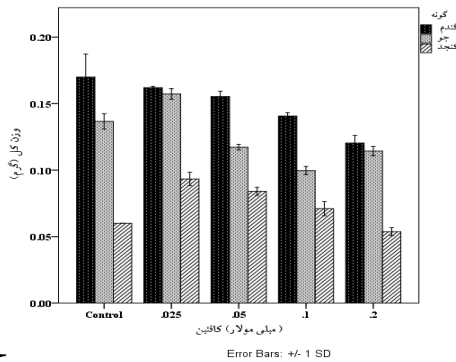
ب

الف



ب

ب



ج

شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر طول و وزن (ریشه‌چه، برگچه) و وزن کل دانه‌رست‌های گندم، جو و کنجد

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 (جدول ۱). در مورد متغیر وزن ریشه چه عامل گونه‌های مورد مطالعه نیز در سطح یک درصد معنی‌دار است. آزمون دانکن در مورد همه متغیرها با گروه‌بندی عامل غلظت کافئین در پنج گروه تفاوت معنی‌دار اثر غلظت کافئین را تأیید می‌نماید. در مورد گونه‌های گندم، جو و کنجد آزمون دانکن در همه متغیرها بجز طول برگ اولیه و وزن ریشه چه عاملی، گونه را در سه گروه طبقه‌بندی نمود، یعنی حساسیت و مقاومت گونه‌ها نسبت به کافئین با هم تفاوت معنی‌دار دارد.

نمودارهای شکل ۲ و جدول ۱ نشان می‌دهند که کافئین بیشترین تأثیر را بطور معنی‌دار هم در سطح ۵ درصد و هم در سطح ۱ درصد بر طول ریشه چه و طول برگچه دانه-رست‌ها دارد. کمترین اثرپذیری نیز در وزن کل 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 ریشه چه و طول برگچه) حساسیت بیشتری به کافئین نسبت به شاخص‌های وزنی مانند وزن کل، وزن برگچه و وزن ریشه چه نشان می‌دهند. در شاخص‌های وزنی امکان خطای آزمایشی به دلیل در نظر گرفتن وزن تر بیشتر است. آنالیز واریانس (جدول ۱) تغییرات شاخص‌های رشد دانه

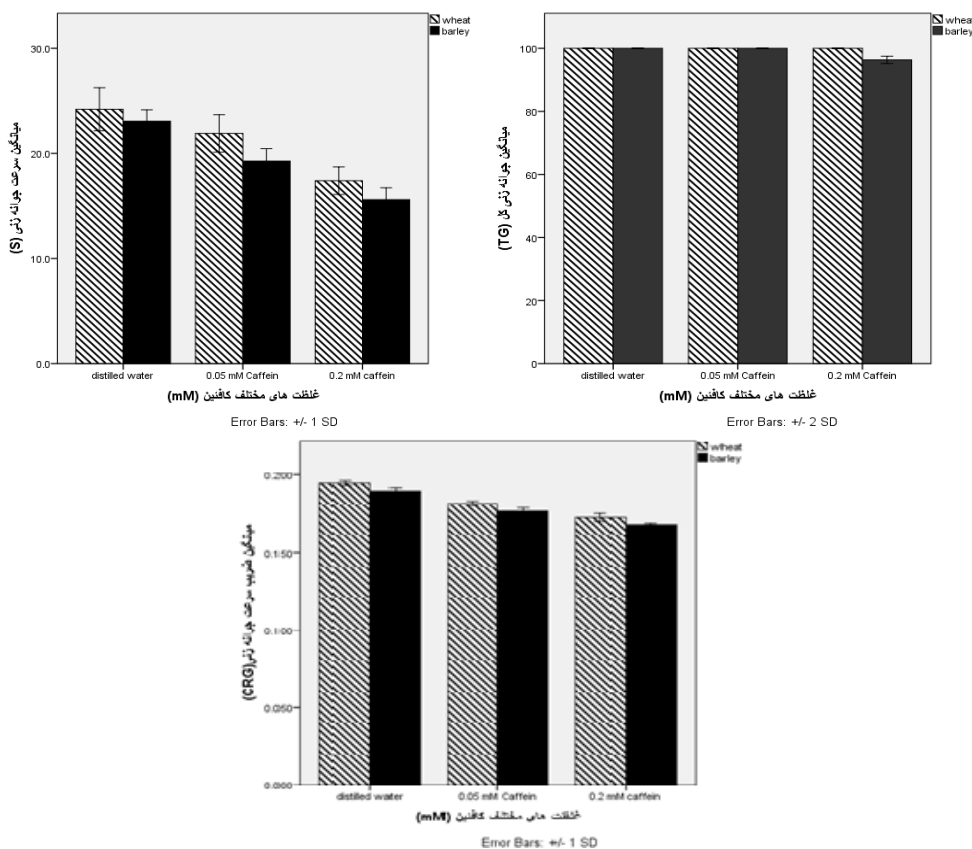
جدول ۱- آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر شاخص‌های رشد دانه‌رست‌های گندم، جو و کنجد

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

<sup>\*\*.\*</sup> به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

زنی بذر گندم و جو را کاهش داده است. اثر کافئین بر کاهش سرعت جوانه‌زنی چاودار نسبت به گندم به طور معنی‌دار بیشتر است. نمودار (شکل ۳) اثر غلظت ۰/۲ و ۰/۰۵ میلی‌مولار کافئین بر ضریب نسبی جوانه‌زنی گندم و جو را نشان می‌دهد. نسبت به گروه کنترل ضریب نسبی-جوانه زنی بذرهای گندم و جو بطور معنی‌دار کاهش نشان داد. کاهش ضریب نسبی جوانه‌زنی جو نسبت به گندم بطور معنی‌دار بیشتر است.

اثر بر شاخص‌های جوانه‌زنی: شکل ۳ 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 (شکل ۳) اثر غلظت ۰/۲ و ۰/۰۵ میلی‌مولار کافئین بر جوانه زنی کل گندم و جو را نشان می‌دهد. نمودار ب (شکل ۳) 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-

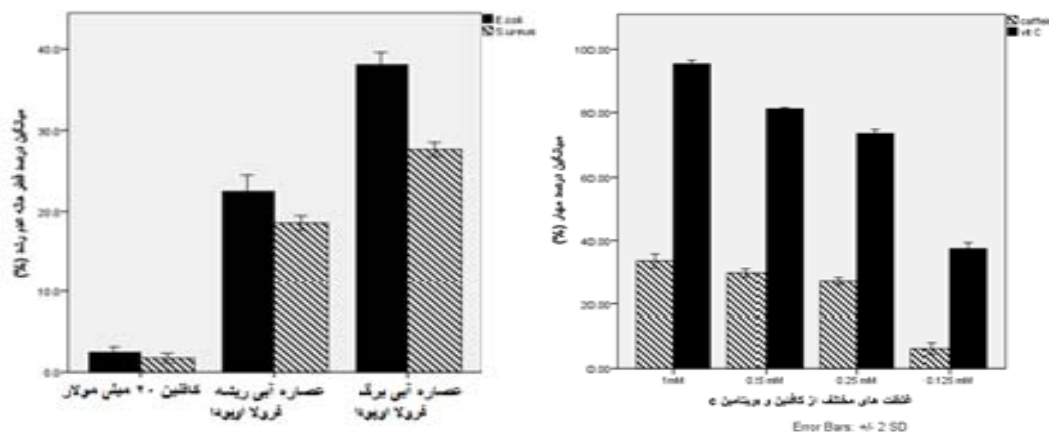


شکل ۳- اثر غلظت ۰/۲ و ۰/۰۵ میلی مولار کافئین و آب مقطر (کنترل) بر جوانه زنی کل (الف) سرعت جوانه زنی (ب) و ضریب سرعت جوانه زنی (پ) گندم و جو

اثر آنتی اکسیدانی: درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH مبنایی برای ارزیابی ویژگی آنتی اکسیدانی می باشد. نمودار الف (شکل ۴) درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH بر اثر غلظت های (۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی مولار) از کافئین ویتامین C را نشان می دهد. نمودار الف شکل ۴ نشان می دهد قدرت مهارکنندگی کافئین قابل مقایسه با ویتامین C نبوده و بطور معنی دار از آن کمتر است. درصد بازدارندگی بیشتر به معنای خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر است. نتایج نشان می دهد درصد بازدارندگی و ویژگی آنتی اکسیدانی ویتامین C بطور معنی دار بیشتر از کافئین است. با افزایش غلظت کافئین بطور معنی دار خاصیت آنتی اکسیدانی و مهارکنندگی رادیکال DPPH نیز افزایش نشان می دهد.

اثر بر نشت الکترولیت و هدایت الکتریکی: شکل ۵ اثر غلظت های ۲۰ و ۰/۲ میلی مولار کافئین بر هدایت الکتریکی محلول پیرامونی بذر گندم (الف)، بذر جو (ب)، ریشه چه گندم (ث) و ریشه چه جو (پ) را نشان می دهد.

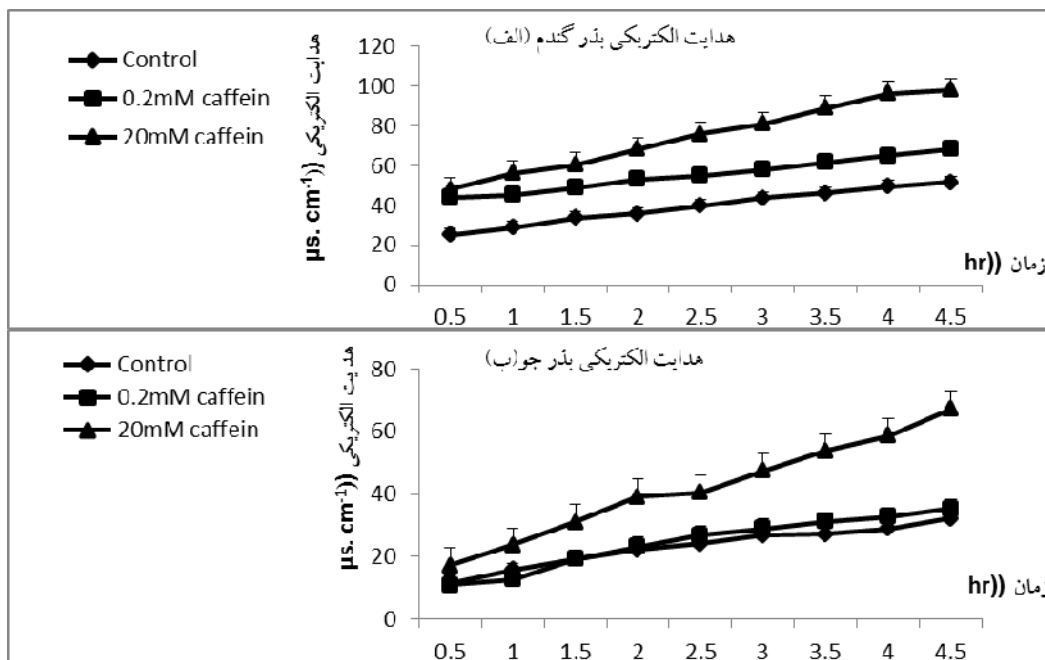


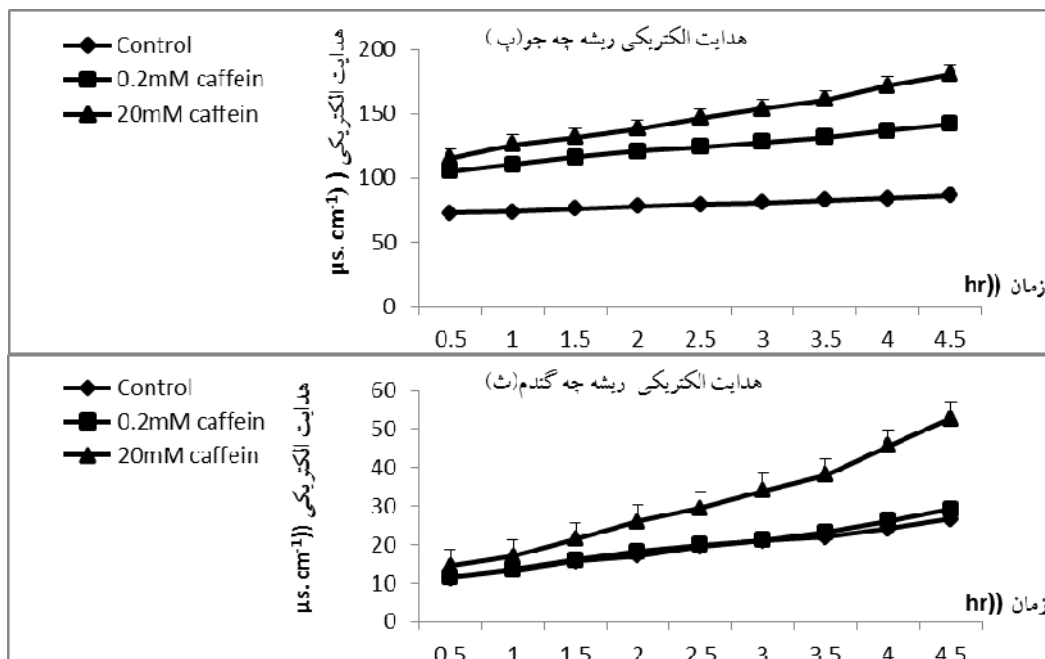


شکل ۴- نمودار (الف) اثر غلظت‌های (۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی‌مولار) کافئین و ویتامین C بر درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH را نشان می‌دهد. نمودار (ب) میانگین درصد قطر هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوک اورئوس و اشیرشیا کلی توسط غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ و ریشه فرولا اوپودا و کافئین ۲۰ میلی‌مولار را نشان می‌دهد.

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 موج ۶۴۰ نانومتر می‌شود.

نمودارهای شکل ۵ 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 ۲۰mM کافئین (نمودارهای ب، ث) مانند گروه شاهد (آب مقطر) اثری یکسان بر هدایت الکتریکی بذر جو (ب)، و ریشه چه گندم نشان داده است.



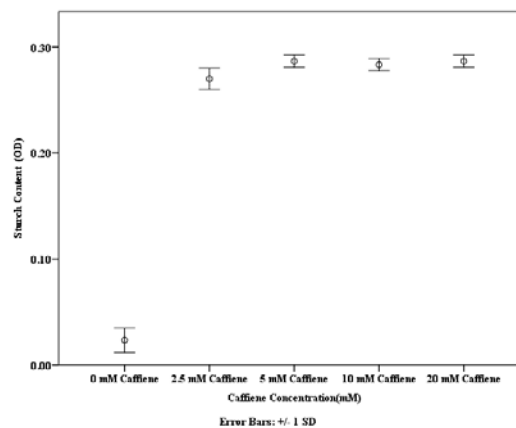


شکل ۵- اثر غلظت ۲۰ و ۰/۲ میلی مولار کافئین و شاهد (آب مقطر) بر هدایت الکتریکی بذر گندم (الف) بذر جو (ب) ریشه چه جو (پ) و ریشه چه گندم (ث)

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 ریشه چه 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



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف کافئین (۲۰، ۱۰، ۵ و ۰/۲ میلی مولار) بر فعالیت آمیلازی (عصاره آنزیمی استخراج شده از بذرهای جوانه زده گندم) بر اساس مقدار نشاسته باقیمانده

شکل ۶، اثر غلظت‌های مختلف کافئین بر فعالیت آمیلازی را نشان می‌دهد. در گروه شاهد صفر میلی مولار (بدون کافئین) فعالیت آمیلازی آنزیم حداکثر و در نتیجه میزان نشاسته حداقل است. در گروه‌های تیمار ۲۰، ۱۰، ۵ و ۰/۲ میلی مولار کافئین فعالیت آمیلازی را مهار و در نتیجه نشاسته تجزیه نشده و مقدار آن کاهش نیافته و حداکثری است. تفاوت معنی‌داری بین اثر غلظت‌های مختلف کافئین

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.

شکل ۳ نتایج اثر کافئین بر جوانه‌زنی کل، 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 *پسدموناس 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 *پسدموناس فلورسنس* می‌باشد (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 هر دو 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

رشد دانه‌رسته‌های 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 تریچه (*Raphanus Sativus*) شده و در غلظت‌های ۵۰-۲۰۰۰ میکرومولار کافئین کاهش تعداد و طول ریشه‌ها در هیپوکوتیل مائس- (*Phaseolus aureus*) مشاهده نمی‌شود. همچنین کافئین ۱۰۰۰۰-۲۵۰۰۰ میکرومولار باعث کاهش تعداد سلولهای ریشه در دانه‌رست‌های نخود (*Pisum Sativum*) 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 مونتر زاولا و همکاران (۲۰۱۳) اثر غلظت ۲/۲۵  $\mu\text{m}$  و ۹ 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 معنی‌داری در حساسیت گندم، جو و کنجد به کافئین مشاهده

تقسیمات میتوز در مریستم ریشه، کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالیز کننده فرایندهای حیاتی گیاه و اختلال در جذب یونهای معدنی که در حضور آلومیکالهایی مانند کافئین رخ می‌دهد، سبب کاهش رشد گیاهیچه 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.

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد غلظت ۰/۲ میلی‌مولار کافئین همه شاخص‌های رشد گندم، جو و کنجد را کاملاً متوقف می‌نماید. در این غلظت تفاوت معنی‌داری در حساسیت گندم، جو و کنجد به کافئین مشاهده نمی‌شود. در غلظت‌های کمتر حساسیت و مقاومت این سه گونه به کافئین با هم تفاوت معنی‌دار دارد. کافئین بیشترین تأثیر را بر سرعت جوانه‌زنی نشان می‌دهد. در هر سه شاخص (جوانه‌زنی کل، سرعت جوانه‌زنی و ضریب نسبی سرعت جوانه‌زنی) اثرپذیری و حساسیت به کافئین در جو بیشتر از گندم می‌باشد. اثرات ضدباکتریایی کافئین به طور معنی‌داری از عصاره آبی برگ و ریشه فرولا اوپودا کمتر می‌باشد. می‌توان 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. کافئین ۲۰mM هدایت الکتریکی محلول پیرامونی بذر و ریشه‌چه گندم و جو را افزایش داد. افزایش هدایت الکتریکی محیط پیرامونی باعث زنده می‌تواند نتیجه نشت الکترولیت‌ها باشد. نتایج به دست آمده نشان داد که کافئین فعالیت آمیلازی را به طور 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

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 (تجزیه‌کنندگی 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 گرم‌زایی را در پی داشته باشد. کافئین از جذب مواد معدنی مخصوصاً آهن جلوگیری می‌کند (V). ویژگی آنتی-اکسیدانی کافئین قابل توجه است. این ویژگی با توجه به افزایش روز افزون استفاده از کافئین در فرآورده‌های غذایی می‌تواند با اهمیت تلقی شود. گزارشی در ارتباط با اندازه‌گیری ویژگی آنتی‌اکسیدانی کافئین مشاهده نگردید.

نمودارهای شکل ۵ نشان می‌دهند کافئین ۲۰mM هدایت الکتریکی محلول پیرامونی بذر و ریشه‌چه گندم و جو را افزایش داده است. افزایش هدایت الکتریکی محیط پیرامونی باعث 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

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.

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 ضد میکروبی کافئین نیز در درمان و داروسازی می‌تواند

## منابع

- ۱- آوخ، آ.، رضایی، ک.، و یوسفی وند، ج.، ۱۳۹۳. بررسی علت خاصیت ضد میکروبی 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 Annu* 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. Allelopathic effect of caffeine on growth and photosynthetic pigment content and its interaction with salicylic 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 *Coffea 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 Lituonica*, 10 (4), PP: 185-88.
- 16- Rezaeinodehi, A., Khangholi, S., Aminidehagh, 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 Agricultural Research*, 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 (C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) 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