

## تغییرات پروتئین و سیستم آنتی‌اکسیدانتی خیار رقم اصفهانی در پاسخ به تنش خشکی

فریبا امینی Ph.D.\*، مهری عسکری Ph.D.<sup>۱</sup>، مهناز حقیر M.Sc.<sup>۲</sup>

۱- دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، کد پستی ۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

\* پست الکترونیک نویسنده مسئول: f-amini@araku.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۱۱

## چکیده

**هدف:** با توجه به اینکه ایران در دنیا یک منطقه خشک و نیمه‌خشک به‌شمار می‌آید و همچنین یکی از کشورهای اصلی تولیدکننده خیار محسوب می‌شود بررسی اثرات خشکی بر این گیاه و تغییرات سیستم آنتی‌اکسیدانتی از اهمیت خاصی برخوردار است.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش خیار رقم اصفهانی در شرایط گلخانه‌ای کشت داده شد و در مرحله ۳ تا ۵ برگگی از رشد گیاه به‌منظور بررسی تغییرات پروتئینی و سیستم آنتی‌اکسیدانتی به مدت ۲۱ روز در معرض چهار سطح از تنش خشکی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) قرار گرفت و پاسخ‌های گیاه بررسی شد. میزان نشت الکترولیت، پراکسیداسیون لیپید، پروتئین، پرولین، آنتی‌اکسیدانت کل، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز،  $\alpha$ توکوفرول و پراکسیدهیدروژن اندازه‌گیری شد.

**نتایج:** بررسی نتایج این مطالعه نشان داد که میزان نشت الکترولیت، پراکسیداسیون لیپید، پرولین، آنتی‌اکسیدانت کل، کاتالاز، گایاکول-پراکسیداز،  $\alpha$ توکوفرول و پراکسیدهیدروژن تحت تنش خشکی در مقایسه با نمونه شاهد افزایش یافت و تنها شاخص میزان پروتئین تحت تنش خشکی در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این تحقیق نشان داد که احتمالاً تحمل به‌خشکی رقم خیار مورد نظر با توجه به فعالیت‌های سیستم آنتی‌اکسیدانتی آنزیمی و غیرآنزیمی و همچنین تجمع پرولین صورت می‌گیرد.

**واژگان کلیدی:** تنش خشکی، گیاه خیار، آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی، آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی

## مقدمه

خشکسالی در واقع عدم وجود رطوبت کافی برای یک گیاه است که در چرخه زندگی گیاه ایجاد مشکل می‌کند و مانع از رشد گیاه می‌شود (۱). در اغلب موارد تنش خشکی منجر به کاهش عملکرد محصول به‌خصوص در سبزیجات می‌شود (۲). کشور ما ایران با متوسط نزولات آسمانی سالیانه معادل ۲۴۰ میلی‌متر در زمره مناطق خشک و نیمه خشک دنیا طبقه‌بندی می‌شود (۳). از این رو مطالعه مولکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان به‌خصوص سبزیجاتی مانند خیار در شرایط خشکی به‌منظور حفظ تولید مواد غذایی تحت شرایط خشکی لازم است (۲). خیار گیاهی است که ریشه‌های کم عمق و برگ گسترده دارد بنابراین به خشکی و شوری حساس است (۴). به‌طور عمده از اثرات اولیه تنش خشکی اختلال در جذب آب و مواد معدنی، هدایت روزنه ای و تولیدات فتوسنتز و کاهش رشد گیاه است (۲ و ۵). علاوه بر این گیاهان در تنش خشکی قادر به حفظ خود در برابر دیگر تنش‌های زیستی یا غیرزیستی نیستند در نتیجه بهره‌وری گیاه بیشتر محدود می‌شود (۶). در مجموع خشکسالی تنش چند بعدی است که نه تنها رشد گیاه را توسط اثرات اولیه محدود می‌کند بلکه با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) اثرات مضر ثانویه تولید می‌کند (۷). اشکال مختلف ROS مانند رادیکال سوپر اکسید ( $O_2^-$ )، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و رادیکال هیدروکسیل ( $OH^\cdot$ ) در محفظه‌های مختلف سلول مانند کلروپلاست یا میتوکندری تولید می‌شود (۸). فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ممکن است سبب بروز صدماتی همچون اکسید شدن (در نتیجه منجر به تغییر ساختار غشاء و از هم پاشیدگی یکپارچگی آن می‌شود)، تغییر ساختمان پروتئین‌ها و اکسید شدن گروه‌های سولفیدریل ( $-SH$ )، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، بی‌رنگ شدن و یا از بین رفتن رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل و سایر ترکیبات رنگیزه‌ای و هم چنین حمله مداوم به مولکول‌های آلی مثل DNA و در نتیجه اختلال در رشته‌های DNA شود (۹). گیاهان برای مقابله با تنش‌هایی مانند تنش خشکی مکانیسم‌های مختلفی از جمله انباشتن مقدار زیادی املاح سازگار (پرولین و قندهای محلول) و همچنین جاذب‌های ROS را دارند (۱۰). گیاهان سیستم آنتی‌اکسیدانتی مختلف شامل ترکیبات آنزیمی و غیر آنزیمی دارند، گونه‌های فعال اکسیژن توسط آنتی-

اکسیدانت‌های غیر آنزیمی مانند گلوتاتیون، اسیدآسکوربیک، توکوفرول و آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی مانند کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گونه‌های فعال اکسیژن را جاروب می‌کنند (۱۱). این تحقیق به‌منظور بررسی تغییرات در سیستم دفاع آنتی-اکسیدانتی در گیاه خیار رقم اصفهانی در شرایط تنش خشکی انجام گرفته است.

## مواد و روش‌ها

بذر گیاه خیار رقم اصفهانی از مرکز بذر و نهال اصفهان تهیه شد و بذرها به‌مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد و سپس شستشو به‌مدت ۱ دقیقه در آب مقطر استریل شدند. پس از آن بذرها به‌مدت ۱۲ ساعت در آب مقطر خیسانده شدند و هر ۱۰ بذر در یک پتری‌دیش حاوی ۲ برگ کاغذ صافی همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر کشت شدند و به دستگاه ژرمیناتور با تناوب دمایی ۲۵/۲۰ (شب/روز) و تناوب نوری ۸/۱۶ (روشنایی/تاریکی) و رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد انتقال داده شدند. پس از ۳ روز بذرها جوانه‌زده به گلدان‌هایی به قطر ۱۵ سانتی‌متر که حاوی یک کیلوگرم مخلوط خاک باغچه و کود حیوانی پوسیده و ماسه شسته‌شده به نسبت ۲:۱:۲ بود منتقل شدند. آبیاری با توزین روزانه‌ی گلدان‌ها به‌صورت کامل (بر حسب ظرفیت زراعی=FC) با آب شهری انجام گرفت (۱۲). پس از گذشت ۳۰ روز از شروع کشت و در مرحله ۳ تا ۵ برگ گیاهان، تیمار خشکی بر روی گیاهان اعمال گردید. تیمارهای اعمال شده (بر حسب مقادیر ظرفیت زراعی) عبارت بودند از: آبیاری به‌میزان ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، آبیاری به‌میزان ۷۵ درصد ظرفیت زراعی (تنش ملایم)، آبیاری به اندازه‌ی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و آبیاری به‌میزان ۲۵ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید). پس از ۲۱ روز اعمال تنش خشکی، برگ گیاهان برداشت شد و تغییرات بیوشیمیایی حاصل از تنش خشکی در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای هر تیمار ۵ گلدان به‌عنوان ۵ تکرار با ۴ گیاه در هر گلدان در نظر گرفته شد. شرایط گلخانه با دمای ۲۵/۲۰ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۵۰/۴۰ درصد بود و آبیاری گلدان‌ها با آب شهری انجام شد. آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایشات فاکتوریل در ۴ سطح تیمار خشکی انجام شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان

گذشت یک دقیقه برای بار دوم ثبت شد. میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی  $39/4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  محاسبه و برحسب میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف شده در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (۱۵).

**سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPOX):** ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، گایاکول ۲۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط شد. جذب براساس اکسیداسیون گایاکول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر T80+PG Instruent UV/Vis به مدت ۳ دقیقه در طول موج ۴۳۶ نانومتر خوانده شد. در نهایت فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از ضریب خاموشی معادل  $\text{mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  ۲۵/۵<sup>۱</sup> محاسبه و برحسب میکرومول تترآگایاکول تولید شده در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین بیان شد (۱۶).

**تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی کل:** برای تعیین فعالیت کل از روش تغییر یافته Abe et al. (۱۷) استفاده شد.

۱۰۰ میلی‌گرم برگ گیاه خیار درون یک میکروتیوب در ازت مایع و اتانول ۹۰ درصد هموژنایز و به مدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید سپس مواد جامد نامحلول با استفاده از سانتریفوژ ۳۵۰۰ g به مدت ۵ دقیقه جدا شدند. مقدار ۳۰ میکرولیتر از محلول استخراجی با ۸۰۰ میکرولیتر از DPPH محلول در اتانول (۰/۵ میلی‌مولار) مخلوط شدند و در نهایت میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر پس از ۳۰ دقیقه تاریکی قرائت شد (۱۷). برای تعیین ظرفیت مهار فعالیت رادیکال DPPH از فرمول زیر استفاده شد.

$$100 \times (\text{جذب نمونه شاهد} / \text{جذب نمونه مورد ارزیابی}) - 100$$

جذب نمونه شاهد) = I درصد

**اندازه‌گیری آلفا توکوفرول:** اساس این روش واکنش Emmene – Engel است که توسط Rosenberg (۱۸) گزارش شده است. ۲/۵ گرم بافت تر برگ گیاه در ۵۰ ml سولفوریک اسید ۰/۱ نرمال هموژنایز شده و به مدت یک شب روی شیکر نگهداری گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید و عصاره حاصل جهت اندازه‌گیری  $\alpha$ -توکوفرول استفاده شد. در ۳ لوله فالکن جدا به ترتیب ۱/۵ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده، ۱/۵ میلی‌لیتر محلول استاندارد (۱۰ میلی‌گرم  $\alpha$ -توکوفرول در یک لیتر اتانول خالص) و ۱/۵ میلی‌لیتر آب

به مدت ۲۴ در آن ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک توسط ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. **اندازه‌گیری پروتئین به روش برادفورد:** به ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر تریس ۰/۵ مولار که pH آن با اسید کلریدریک به ۶/۸ رسانده شده، مقدار ۲ گرم سدیم دودوسیل سولفات افزوده و حل شد. پس از توزین ۰/۲ گرم از نمونه‌های تازه برگ و سائیدن آن‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ازت مایع، ۱۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج به آن افزوده و مخلوط شد. سپس محلول‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. سپس ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی بلو G250 در ۱۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد قطره قطره همراه با شیکر به آن اضافه و به حجم ۱ لیتر رسانده شد. سپس با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ چندبار صاف گردید تا رنگ آن به صورت قهوه‌ای کم‌رنگ درآمد. سپس با حل نمودن ۱ میلی‌گرم پودر آلبومین سرم گاو (BSA) درون ۱ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر، محلول استاندارد پروتئین به دست آمد. برای تعیین مقدار پروتئین در عصاره‌های سلولی، به هر لوله ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات، ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد اضافه گردید. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره سلولی به هر لوله اضافه شد و حجم نهایی هر لوله ۶ میلی‌لیتر شد. محتویات درون هر لوله به خوبی مخلوط و سپس جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۱۳).

**استخراج عصاره خام پروتئینی:** برای تهیه عصاره آنزیمی، ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ گیاه در نیتروژن مایع سائیده و در ۱ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) حاوی ۱ میلی‌مولار EDTA حل شد. ترکیب حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. از محلول شفاف رویی که حاوی عصاره آنزیمی بود، جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT) و گایاکول-پراکسیداز (GPOX) استفاده شد (۱۴).

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز:** ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی همراه ۲ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار (pH=7) حاوی ۱۰ میلی‌مولار  $\text{H}_2\text{O}_2$  به روش نورسنجی در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین شد. جذب نمونه‌ها بلافاصله پس از قرار داده شدن در دستگاه و بعد از

الکتریکی نمونه‌ها برحسب اندازه‌گیری شد و از رابطه زیر نشت پذیری غشاء سلولی برحسب درصد محاسبه شد (۲۰).  

$$E1 \times 100 = (E1/E2) \times \text{نشت پذیری غشاء سلولی که در آن } E1$$
 بیان‌گر نشت اولیه و E2 نشت ثانویه می‌باشد.

**اندازه‌گیری هیدروژن پراکسید:** در اندازه‌گیری هیدروژن پراکسید از روش تغییریافته ولیکووا و همکاران (۲۱) استفاده شد. ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ را با ۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید یک دهم درصد روی یخ ساییده و عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفوژ یخچال دار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی را با ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم یک صدم مولار و pH=۷ و یک میلی‌لیتر از KI یک مولار مخلوط کرده جذب نمونه‌ها را در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده و با رسم منحنی استاندارد  $H_2O_2$  در غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میکرومول میزان  $H_2O_2$  بر حسب میکرومول بر گرم محاسبه شد (۲۱).

**سنجش و اندازه‌گیری اسیدآمین پپرویلین:** به منظور اندازه‌گیری پپرویلین از روش Bates (۲۲) استفاده شد. به ۰/۱ گرم از بافت برگ ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک ۳ درصد افزوده شد. مخلوط حاصل هموزن سپس با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. دو میلی‌لیتر عصاره حاصل، دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال در لوله آزمایش ریخته و به مدت یک ساعت در بن‌ماری با حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس لوله‌ها از بن‌ماری خارج و در دمای محیط سرد شدند، بهر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد. پس از گذشت ۱ تا ۲ ساعت دو فاز در لوله آزمایش تشکیل شد: از فاز بالایی جهت خواندن جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده گردید. از تولوئن به‌عنوان محلول بلانک استفاده شد. میزان پپرویلین با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$X = [(A = B) / C] / (D / 5)$$

X: مقدار پپرویلین برحسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ،  
 A: مقدار پپرویلین به‌دست آمده از منحنی استاندارد بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر (پیوست ۶)، B: مقدار تولوئن استفاده شده بر حسب میلی‌لیتر، C: عدد مولکولی پپرویلین  $115/13 \mu\text{g}/\mu\text{mol}$  و D: مقدار نمونه گیاهی وزن شده بر حسب گرم.

ریخته شد و سپس ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول و ۱/۵ میلی‌لیتر از زایلین به‌ر لوله اضافه و مخلوط گردید و توسط سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. در این‌جا نمونه‌ها دو فاز می‌دهد یک میلی‌لیتر از فاز رویی که حاوی زایلین و توکوفرول است و یک میلی‌لیتر از محلول ۲ و ۲ دی پیریدین به خوبی مخلوط شد. در مرحله بعد جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۶۰ نانومتر خوانده شد سپس ۰/۳۳ میلی‌لیتر از محلول کلرید آهن به نمونه‌ها اضافه شد و جذب نمونه‌ها بعد از ۱۵ دقیقه در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. از فرمول زیر برای محاسبه مقدار توکوفرول استفاده می‌شود:

$$\text{Tocopherol } (\mu\text{gr}) = \frac{\text{Sampla 520-A460}}{\text{Standaard A 520}}$$

**اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء:** به منظور اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء از غلظت مالون دی‌آلدئید استفاده شد. ابتدا ۰/۵ گرم بافت برگ تازه در ازت مایع هموزن و سپس ۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک اسید به آن اضافه شد. محلول حاصل با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره رویی و ۲ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد سپس لوله‌ها به مدت چند دقیقه روی یخ خرد شده قرار گرفت. محتوای لوله‌ها مجدداً به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد و سپس جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. غلظت مالون دی‌آلدئید، با استفاده از فرمول زیر و با ضریب خاموشی  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  و برحسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد (۱۹).

$$A = b$$

**اندازه‌گیری نشت پذیری غشاء سلولی:** برای اندازه-

گیری نشت پذیری غشاء سلولی ۰/۳ گرم برگ در ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر در شیشه‌های استریل شناور شده و به مدت ۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از این مدت هدایت الکتریکی توسط هدایت سنج الکتریکی برحسب (میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر) در دمای اتاق سنجیده شد. سپس نمونه‌ها به انکوباتور با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل پس از ۲۰ دقیقه نمونه‌ها از انکوباتور خارج و در دمای اتاق خنک شدند و مجدداً هدایت

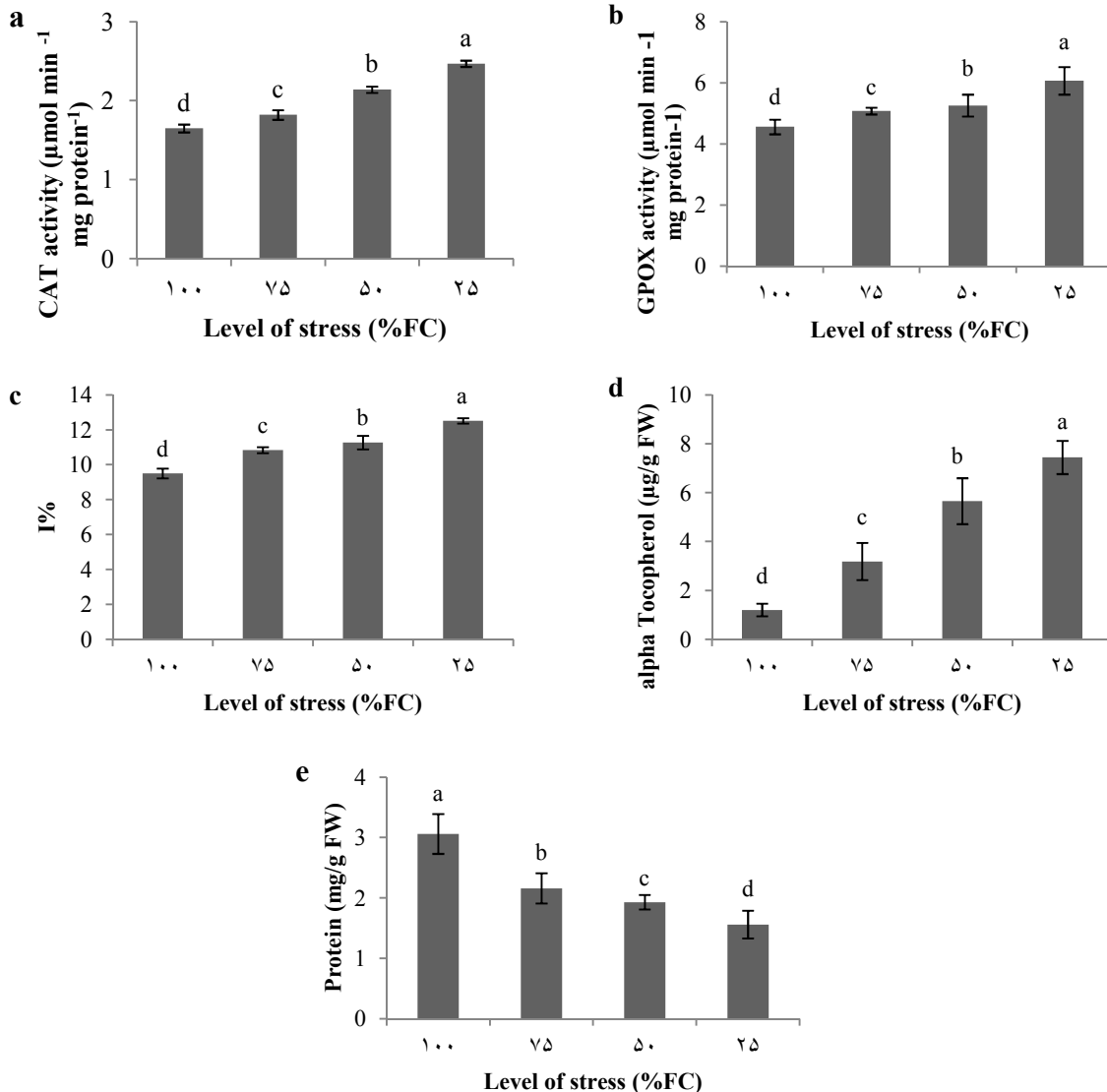
## آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار spss16، مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن و رسم نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

## نتایج

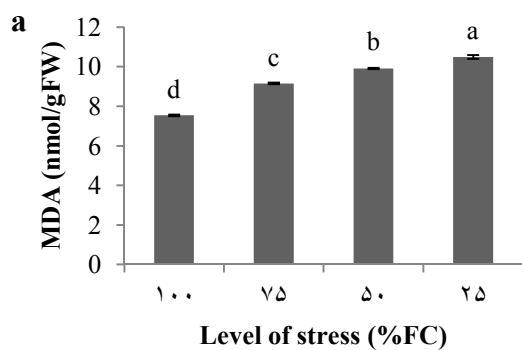
بررسی نتایج این مطالعه نشان داد که تنش خشکی اثر منفی و معنی‌داری بر میزان پروتئین محلول برگ نشان داد. با افزایش سطح تنش میزان پروتئین کاهش یافت. بیشترین میزان پروتئین در گیاهان شاهد و کمترین میزان آن در گیاهان تحت تنش شدید مشاهده شد. طی تنش متوسط و شدید به ترتیب کاهش ۳۶/۹۲ و ۴۹/۰۱ درصدی در میزان پروتئین محلول برگ مشاهده شد (شکل ۱).

خشکی اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، میزان آنتی‌اکسیدان کل و آلفا توکوفرول در (سطح ۰/۰۱) داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کمترین میزان این شاخص‌ها در گیاهان شاهد بود و با افزایش سطح خشکی میزان این شاخص‌ها نیز افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان این شاخص‌ها در گیاهان تحت تنش شدید مشاهده شد. طی تنش شدید میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش ۴۹/۶۹ درصدی، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش ۳۳/۱۱ درصدی، میزان آنتی‌اکسیدان کل افزایش ۳۱/۶۸ درصدی و آلفا توکوفرول افزایش ۶/۲۰ برابری را نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۱).

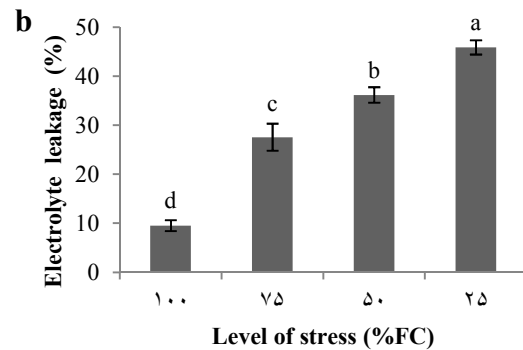


شکل ۱: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی [۱۰۰ و ۷۵، ۵۰، ۲۵ درصد ظرفیت زراعی (FC)] بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (a)، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (b)، آنتی‌اکسیدان کل (c)، آلفا توکوفرول (d) و پروتئین (e) برگ گیاه خیار رقم اصفهانی. خطوط نشان‌دهنده SE و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن بر اساس آزمون دانکن (سطح ۰/۰۵) می‌باشد.

شدید مشاهده شد. بیشترین افزایش پراکسیداسیون لیپید ۳۹/۱۲ و نشت‌پذیری غشاء سلولی ۴/۸۳ درصد نسبت به شاهد در گیاهان تحت تنش شدید مشاهده شد (شکل ۲).



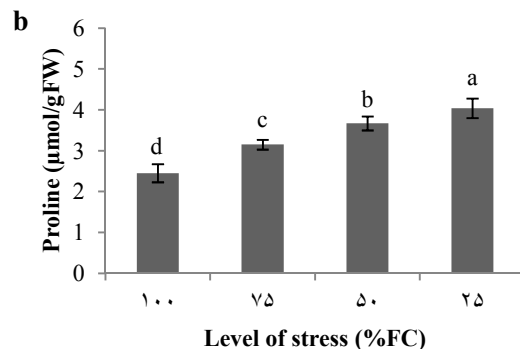
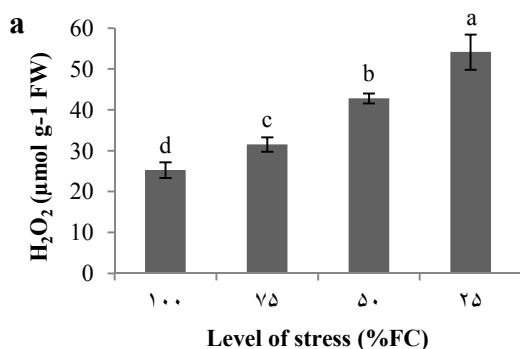
نتایج نشان داد که تنش خشکی بر میزان پراکسیداسیون لیپید و نشت‌پذیری غشای سلولی اثر معنی‌داری (سطح ۰/۰۱) داشته است. کمترین میزان این شاخص‌ها در گیاهان شاهد و بیشترین میزان آن در گیاهان تحت تنش



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر سطوح [۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی (FC)] تنش خشکی بر میزان پراکسیداسیون لیپید (a) و نشت‌پذیری غشای سلولی (b) خیار اصفهانی. خطوط نشان‌دهنده SE و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن بر اساس آزمون دانکن (سطح ۰/۰۵) می‌باشد.

تحت تنش شدید مشاهده شد میزان هیدروژن پراکسید در تنش شدید ۲/۱۴ برابر و میزان پرولین ۶۴/۸۹ درصدی افزایش یافت (شکل ۳).

آنالیز داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها بر روی میزان هیدروژن پراکسید و پرولین تولید شده در شرایط خشکی بیانگر افزایش معنی‌دار (سطح ۰/۰۱) بود. کمترین میزان این شاخص‌ها در گیاهان شاهد و بیشترین میزان آن در گیاهان



شکل ۳: مقایسه میانگین اثر سطوح [۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی (FC)] تنش خشکی بر میزان هیدروژن پراکسید (a) و پرولین (b) خیار اصفهانی. خطوط نشان‌دهنده SE و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن بر اساس آزمون دانکن (سطح ۰/۰۱) می‌باشد.

مراحل رشد رویشی و فاز گل‌دهی تحت تاثیر تنش خشکی کاهش محتوای پروتئین هر سه کولتیوار در هر دو فاز رویشی و گلدهی مشاهده شد. در بررسی دیگری محتوای پروتئین دانه در ۵ کولتیوار مطالعه شده از گندم در طی تنش خشکی کاهش معنی‌داری را نشان داد (۲۵).

در بسیاری از تحقیقات کاهش عوارض جانبی ناشی از تنش خشکی در گیاهان، توسط سیستم‌های آنتی‌اکسیدانتی آنزیمی و غیرآنزیمی گزارش شده است (۲۶ و ۲۷). محققان معتقدند از اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از خشکسالی در گیاهان، توسعه یک مکانیسم پیچیده‌ای از سیستم آنتی-

### بحث

کاهش محتوای پروتئین در اثر تنش خشکی در این مطالعه مشاهده شد. بررسی محتوای پروتئین کل گیاه انجدان رومی قرار گرفته در معرض تنش خشکی، کاهش این محتوا را در طی تنش شدید خشکی مشخص کرد که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد (۲۳). کاهش در غلظت پروتئین یک نشانه‌ی معمول از تنش اکسیداتیو می‌باشد و اغلب در گیاهان قرارگرفته تحت تنش خشکی مشاهده می‌شود (۲۴). در مطالعه مفاخری و همکاران (۲۴) روی کولتیوارهای ILC482، Bivaniej و Pirouz نخود در

طی تنش گزارش کرد. افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تخریب اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌های عملکردی و ساختاری می‌شود. اندامک‌های مختلف شامل کلروپلاست‌ها، میتوکندری‌ها و پراکسی‌زوم‌ها جزء اولین اهداف گونه‌های فعال اکسیژن تولیدشده در طی تنش خشکی هستند (۳۳). سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی موجود در گیاهان از آن‌ها در برابر آسیب‌های تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند (۳۴). سعیدنژاد و همکاران (۳۵) اثر تنش خشکی را بر سیستم آنتی‌اکسیدانتی گیاه زیره کوهی مطالعه کردند و افزایش درصد تخریب رادیکال DPPH را در طی این تنش مشاهده کردند. محمد و اکلادیوس (۳۶) سیستم آنتی‌اکسیدانتی گیاه سویا قرار گرفته در معرض تنش خشکی را مورد مطالعه قرار دادند. آلفا توکوفرول در غشاء تیلاکوئید واقع است و در سم زدایی ROS درگیر است و همچنین مانع از پراکسیداسیون لیپید می‌شود (۳۷). آلفا توکوفرول ترکیب اصلی ویتامین E اثرات نامطلوب استرس‌های محیطی را در گیاه چرخه گزانتوفیل کاهش می‌دهد (۳۸). در این مطالعه محتوای آنتی‌اکسیدانت‌های غیر آنزیمی از جمله آلفا توکوفرول با افزایش شدت خشکی افزایش یافت. افزایش سطوح این ترکیب در هنگام تنش نشان‌دهنده مقاومت گیاه در برابر تنش می‌باشد که با کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش همراه است (۳۷).

نتایج مطالعه ما مشخص کرد که نشت‌پذیری غشاء سلولی و پراکسیداسیون لیپید با افزایش سطوح خشکی افزایش معنی‌داری یافت. افزایش نشت الکترولیتی مواد نشانه‌ای از آسیب غشاها و کاهش پایداری غشاها می‌باشد که احتمالاً نتیجه تنش اکسیداتیو است. بر اثر تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع توسط ROS، ترکیباتی مثل مالون‌دی‌آلدئید (MDA) تولید می‌شود که برای سلول مسمومیت ایجاد می‌کند. تجمع مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش سبب افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی می‌شود و نشت یونی افزایش می‌یابد که شاخصی از میزان صدمه‌ی اکسایشی به‌شمار می‌رود (۳۹) جانگلانگ و همکاران (۳۰) نیز نتیجه مشابهی را در مورد افزایش نشت یون بر اثر تنش کمبود آب در گیاه *Curcuma alismatifolia* تحت شدت‌های مختلف خشکی گزارش کردند، اندازه‌گیری نشت یون برگ پس از ۳۰ روز افزایش این شاخص را با افزایش شدت

اکسیدانتی است. فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی (۲۷) و غیر آنزیمی (۲۸) در گیاهان مقاوم به تنش خشکی در مقایسه با گونه‌های حساس به خشکی، بالاتر است. در نتیجه نقش سیستم آنتی‌اکسیدانتی در تحمل به تنش خشکی اجتناب ناپذیر است. دانگ و همکارانش (۲۸) افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی را در افزایش سطوح تنش خشکی و سرما در گیاه خیار نشان دادند. گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) تولیدی توسط تنش‌های مختلف از جمله خشکی از طریق تخریب نوکلئیک اسیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها روی بسیاری از جنبه‌های عملکردی سلول‌ها اثر می‌گذارند (۸)، بنابراین سلول برای حفظ بقا مجبور به استفاده از یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی در برابر ROS می‌شود. به عبارت دیگر تجمع ROS‌های القا شده توسط تنش به وسیله سیستم آنتی‌اکسیدانتی خنثی می‌شود. مطالعات نشان داد که گونه‌های گیاهی متحمل نسبت به تنش، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانتی کارآمدتری را نسبت به گونه‌ها یا سویه‌های حساس دارند. هر چند که، القای سنتز آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی در پاسخ به تنش وابسته به گونه و شدت تنش متغیر است (۲۹). گیاه در چنین شرایطی با افزایش سنتز آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی همچون گایاکول پراکسیداز و کاتالاز از تجمع ROS و در نتیجه اثرات منفی ناشی از آن‌ها جلوگیری می‌کند.

در این مطالعه با افزایش سطح خشکی میزان آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، میزان آنتی‌اکسیدانت کل و میزان آلفا توکوفرول نیز افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان این شاخص‌ها در گیاهان تحت تنش شدید مشاهده شد. کاتالاز با توانایی جاروب رادیکال  $H_2O_2$  از تجمع ROS جلوگیری می‌کند و بنابراین گیاه را در برابر پراکسیداسیون لیپیدی سیستم‌های غشایی و آسیب‌های اکسیداتیو تحت استرس خشکی محافظت می‌نماید (۲۴). نتیجه‌ی مشابه مطالعه حاضر در افزایش فعالیت کاتالاز در گیاه *Curcuma alismatifolia* تحت تنش کمبود آب گزارش شد (۳۰). لوم و همکاران (۳۱) ۸ واریته از گیاه برنج را در معرض استرس خشکی قرار دادند. بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را مشخص کرد. حبیبی (۳۲) در بررسی اثر تنش خشکی در گیاه جو، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در این گیاه را

نشت‌پذیری غشاء سلولی می‌شود. از طرفی تنش خشکی منجر به کاهش میزان پروتئین در خیار اصفهانی شد.

#### منابع

1. Manivannan P, Jaleel CA, Somasundaram R, Panneerselvam R. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. C. R. Biol. 2008; 331(6): 418-425.
2. Kusvuran S. Effects of drought and salt stresses on growth, stomatal conductance, leaf water and osmotic potentials of melon genotypes (*Cucumis melo* L.). Afr. J. Agric. Res. 2012; 7(5): 775-781.
3. Sarmadnia GH. [The importance of environmental stresses in agriculture. Key articles of the First Congress of Agronomy and Plant Breeding], Tehran University, Tehran. 1993.(in Persian).
4. Li J, Nishimura Y, Zhao X, Fukumoto Y. Effects of Drought Stress on the Metabolic Properties of Active Oxygen Species, Nitrogen and Photosynthesis in *Cucumber* 'Jinchun No. 5' Seedlings. JPN. AGR. RES. Q. 2014; 48: 175-181.
5. Hu Y, Schmidhalter U. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. J.Plant Nutr. Soil Sci. 2005; 168(4): 541-549.
6. Ramegowda V, Senthil-Kumar M. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination. J. Plant Physiol. 2015; 176: 47-54.
7. Zhu Z, Wei G, Li J, Qian Q, et al. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Sci. 2004; 167: 527-533.

خشکی مشخص کرد. پراکسیداسیون لیپیدها در غشاهای زیستی بارزترین علامت استرس اکسیداتیو در گیاهان است. هنگامی که سطوح ROS از ظرفیت گیاه برای جاروب کردن رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌شود، پراکسیداسیون لیپیدها افزایش می‌یابد و به موجب آن فرآیندهای فیزیولوژیکی سلول را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۴۰). بررسی تاثیر تنش خشکی بر گیاه سیاه گلی افزایش ۸۲ درصدی محتوای MDA تحت تنش خفیف و افزایش ۱۳۱ درصدی MDA تحت تنش شدید را نشان داد (۴۱). لی و همکارانش (۴) افزایش تولید گونه‌های ROS مانند هیدروژن پراکسید و محتوای MDA را با افزایش شدت خشکی در گیاهان خیار مشخص کردند. در مطالعات دیگر افزایش محتوای MDA و نشت‌پذیری غشاء سلولی در گیاهان خیار گزارش شد (۴۲).

نتایج این مطالعه مشخص کرد که افزایش تنش خشکی سبب افزایش میزان هیدروژن پراکسید و محتوای پرولین گاه خیار رقم اصفهانی شد. فان و همکاران (۴۳) اثرات کوتاه‌مدت تنش کمبود آب را بر محتوای  $H_2O_2$  ریشه گیاه خیار مورد بررسی قرار دادند. بررسی‌ها نشان داد که محتوای  $H_2O_2$  در طی تنش در ریشه گیاه خیار افزایش معنی‌داری را نشان داد. در میان گونه‌های فعال اکسیژن،  $H_2O_2$  به‌عنوان یک ROS پایدار می‌تواند در سراسر غشاهای زیستی منتشر شود و آسیب‌های شدیدی را در متابولیسم گیاه تحت شرایط تنش ایجاد کند. جعفری و همکاران (۴۴) اثر پرولین به‌عنوان یک اسمولیت، یک پیش ماده برای پروتئین‌ها، سم زدای ROS، تثبیت کننده غشاء، مولکول آنتی‌اکسیدانت و مولکول سیگنال گزارش شده است (۴۵). بنابراین محتوای پرولین یک شاخص خوب برای نشان دادن مقاومت به خشکی است. افزایش محتوای بالای پرولین گیاه خیار را در طی تنش اسمزی گزارش کردند. نشان داده شده است که پرولین تولید اکسیژن منفرد را سرکوب می‌کند. کاهش محتوای ROS و تنظیم نسبت NAD/NADH به پرولین نسبت داده شده است (۴۶).

#### نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان می‌دهد که تنش خشکی منجر به افزایش در پراکسیداسیون لیپیدها، پراکسید هیدروژن و



17. Abe N, Murata T, Hirota A. Novel 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl- radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1998; 62: 661-662.
18. Rosenberg HR. *Chemistry and physiology of the vitamins.* New York, Interscience, 1942.
19. Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. biophys.* 1968; 125(1): 189-198.
20. Valentovic P, Luxova M, Kolarovic L, Gasparikova O. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil Environ.* 2006; 52(4): 184-191.
21. Velikova V, Yordanov I, Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci.* 2000; 151(1): 59-66.
22. Bates LS, Waldren RP, Teare ID. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil.* 1973; 39(1): 205-207.
23. Akhzari D, Pessaraki M. Effect of Drought Stress on Total Protein, Essential Oil Content, and Physiological Traits of *Levisticum officinale* Koch. *J. Plant Nutr.* 2016; 39(10): 243-250.
24. Mafakheri A, Siosemardeh A, Bahramnejad B, Struik PC, et al. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Aust. J. Crop Sci.* 2011; 5(10): 1255-1260.
25. Ashrafi-Parchin R, Shaban M. Study on protein Changes in wheat under drought stress. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2014; 2: 317-320.
26. Khan A, Ashraf M. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative
8. Foryer C, Noctor G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. *New Phytol.* 2000; 146: 359-388.
9. Habibi D, Mashdi-Akbar M, Boojar A, Mahmoudi M, et al. Antioxidative enzyme in sunflower subjected to drought stress. 4<sup>th</sup> International Crop Science, Congress, Brisbane, Australia, 2004.
10. Serraj R, Sinclair T. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant cell environ.* 2002; 25(2): 333-341.
11. Li H, Li X, Zhang D, Liu H, et al. Effects of drought stress on the seed germination and early seedling growth of the endemic desert plant *Eremosparton songoricum* (Fabaceae). *J. Exp. Clin. Sci.* 2013; 12: 89-101.
12. Amiri-Dehabadi R, Parsa M, Ganjali A. Effect of drought stress on morphological characteristics and yield components in different phenological stages of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. *Iranian J. Field Crops Res.* 2010; 8: 157-166.
13. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976; 72(1-2): 248-254.
14. Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 1977; 59(2): 309-314.
15. Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant physiol.* 1992; 98(4): 1222-1227.
16. Polle A, Otter T, Seifert F. Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). *Plant Physiol.* 1994; 106(1): 53-60.

- quantitative and qualitative yield and antioxidative activity of *Bunium persicum*. Turk. J.Bot. 2013; 37: 930-939.
36. Mohamed HI, Akladios SA. Influence of garlic extract on enzymatic and non enzymatic antioxidants in soybean plants (*Glycine max*) grown under drought stress. Life Sci. 2014; 11(3s): 46-58.
37. Munne-Bosch S. The role of  $\alpha$ -tocopherol in plant stress tolerance. Plant Physiol. 2005; 162(7): 743-748.
38. Havaux, M, Bonfils, J.-P, Lütz, C, Niyogi KK. Photodamage of the photosynthetic apparatus and its dependence on the leaf developmental stage in the npq1 *Arabidopsis* mutant deficient in the xanthophyll cycle enzyme violaxanthin de-epoxidase. Plant Physiol. 2000; 124(1): 273-284.
39. Gulen H, Turhan E, Eris A. Changes in peroxidase activities and soluble proteins in strawberry varieties under salt stress. Acta Physiol. Plant. 2006; 28: 109–116.
40. Labudda M. Lipid peroxidation as a biochemical marker for oxidative stress during drought. An effective tool for plant breeding. E-wydawnictwo, Poland. 2013; 5(2): 23-29.
41. Ashaha DVM, Liu L, Ueda A, Nagaoka T. et al. Effects of drought stress on growth, solute accumulation and membrane stability of leafy vegetable, huckleberry (*Solanum scabrum* Mill.). J. Environm. Biol. 2016; 37(1): 107-114.
42. Arasimowicz-Jelonek M, Floryszak-Wieczorek J, Kubiś J. (2009). Interaction Between Polyamine and Nitric Oxide Signaling in Adaptive Responses to Drought in Cucumber. Journal of Plant Growth Regulation, 28(2): 177-186.
43. Fan HF, Ding L, Du CX, Wu X. Effect of short-term water deficit stress on antioxidative systems in cucumber seedling roots. Bot. Stud. 2014; 55: 1-7.
- stress in wheat. Environ. Exper. Bot. 2008; 63: 224-231.
27. Mandhania S, Madan S, Sawhney V. Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings. Biol. Plantarum. 2006; 50(2): 227-231.
28. Dong X, Bi H, Wu G, Ai X. Drought-induced chilling tolerance in cucumber involves membrane stabilisation improved by antioxidant system. Int. J.Plant Prod. 2013; 7(1): 67-80.
29. Bernardi R, Nali C, Gargiulo R, Pugliesi C, et al. Protein pattern and Fe-superoxide dismutase activity of bean plants under sulphur dioxide stress. J. Phytopathol. 2001; 149: 477-480.
30. Jungklang J, Saengnil K, Uthaibutra J. Effects of water-deficit stress and paclobutrazol on growth, relative water content, electrolyte leakage, proline content and some antioxidant changes in *Curcuma alismatifolia* Gagnep. cv. Chiang Mai Pink. Saudi J. Biol. Sci. 2015; In press.
31. Lum MS, Hanafi MM, Rafii YM, Akmar ASN. Effect of drought on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice, 2014. The Journal of Animal and Plant Sciences. 2014; 24(5): 1487-1493.
32. Habibi G. Effect of drought stress and selenium spraying on photosynthesis and antioxidant activity of spring barley. Acta agric. Slov. 2013; 101(1): 31-39.
33. Farooq M, Wahid A, Kobahashi N, Fujita D, et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Dev. 2009; 29(1): 185-212.
34. Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerant in crop plants. Plant Physiol. Biochem. 2010; 48(12): 909-930.
35. Saeidnejad AH, Kafi M, Khazaei HR, Pesarakli M. Effects of drought stress on

- environments: a review. *Plant Signaling & Behavior*. 2012; 7(11), 1456-1466.
46. Soshinkova TN, Radyukina NL, Korolkova DV, Nosov AV. Proline and functioning of the antioxidant system in *Thellungiella salsuginea* plants and cultured cells subjected to oxidative stress. *Russ. J. Plant Physiol.* 2013; 60: 41-54.
44. Jafari SR, Arvin SMJ, Manoochehri-Kalantari K. Response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings to exogenous silicon and salicylic acid under osmotic stress. *Acta Biolo. Szegediensis*. 2015; 59(1): 25-33.
45. Hayat S, Hayat Q, Alyemeni MN, Wani AS, et al. Role of proline under changing

## Changes in protein and antioxidant system of *Cucumis sativus* cv. **Isfahani** in response to drought stress

Amini F, Ph.D.\*<sup>1</sup>, Askari M. Ph.D.<sup>1</sup>, Haghiri, M. M.Sc.<sup>2</sup>

1. Biology Department, Faculty of Science, Arak University, Arak 38156-8-8349, Iran

2. M.Sc. in Plant Physiology, Biology Department, Faculty of Science, Arak University

\* Email corresponding author: f-amini@araku.ac.ir

Received: 1 Nov. 2016

Accepted: 27 Dec. 2016

---

### Abstract

**Aim:** Iran is considered as an arid and semi-arid area of the world and also it is one of the main countries producing cucumbers; so study the effects of drought on this plant and also its antioxidant system changes are important.

**Material and methods:** In this study, cucumber cv. Isfahani plants were grown under greenhouse condition. In order to study the effect of changes in protein and antioxidant systems, cucumber plants at 3 to 5 leaf stage were treated with 4 levels of drought stress (100, 75, 50 and 25 percent) and their responses to applied stresses were investigated. The amounts of electrolyte leakage, lipid peroxidation, protein, proline, total antioxidant, catalase and guaiacol peroxidase activities,  $\alpha$ -tocopherol and hydrogen peroxide were measured.

**Results:** The results study showed that the contents of electrolyte leakage, lipid peroxidation, proline, total antioxidant, catalase, guaiacol peroxidase,  $\alpha$ -tocopherol and hydrogen peroxide increased under drought stresses as compared to the control plants. However, protein index decreased under drought stresses in comparison with controls.

**Conclusion:** The obtained findings showed that in this cultivar of cucumber tolerance to drought was related to enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities and also proline accumulation.

**Keywords:** Catalase, Cucumber plant, Drought stress, Guaiacol peroxidase, Proline