تاثیر برگ‌پاشی آسکوربات بر میزان مالون د آلدهید، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه کتان (*Linum usitatissimum* L.) تحت تنش خشکی

انوشه ذاکری*[۱]، مه لقا قربانلی[۲]، غلامرضا بخشی خانیکی[۳]

۱. کارشناس ارشد، دانشگاه پیام نور مرکز تهران، تهران، ایران

۲. استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

۳. دانشیار، دانشگاه پیام نور مرکز تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۷/۰۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۹/۱۵**

چکیده

خشکی یکی از عوامل محدود کننده رشد می باشد و این پدیده تقریباً همه ساله در بخشی از کشور به علت کمبود بارندگی و یا کمبود آب رخ می‌دهد. در این پژوهش اثر تنش خشکی و بر همکنش آن با آسکوربات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و میزان پرولین و مالون د آلدهید در گیاه کتان انجام گرفت. این آزمایش با سه تکرار به صورت گلدانی و طرح کاملاً تصادفی انجام شد. سپس ۵ تیمار شامل ظرفیت زراعی (شاهد)، خشکی ملایم (۲/۳ ظرفیت زراعی)، خشکی شدید (۱/۳ ظرفیت زراعی) و نیز تنش‌های خشکی به همراه اسپری برگی از آسکوربات در غلظت ۸ میلی‌مولار در نظر گرفته شد که به مدت دو هفته بر روی گیاهان اعمال شد. بررسی در سطح ۵ درصد نشان داد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در این آزمایش کاهش و فعالیت آنزیم پرکسیداز، میزان پرولین و مالون د آلدهید در تیمارهای تنش خشکی در مقایسه با شاهد افزایش یافت. نتایج این تحقیق نشان داد که به کارگیری آسکوربات به شکل برونزاد سبب کاهش تاثیر تنش بر فاکتورهای مورد سنجش در گیاه کتان شد

واژگان کلیدی: آسکوربات، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پرولین، کتان، مالون د آلدهید.

مقدمه

خشکی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که باعث کاهش رشد گیاهان و در نتیجه عملکرد آنها می‌شود و در حقیقت بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در گیاهان مختل می‌کند (Efeoğlu et al., 2009). در اثر شرایط نامساعد محیطی تشکیل انواع اکسیژن فعال (ROS) افزایش می‌یابد (Jubany-Marí et al., 2010). اگر تعادل بین تولید ROS و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از بین رود، تنش اکسیداتیو ایجاد شده منجر به تخریب غشاهای سلولی و سایر اندامک‌ها می‌شود (Ozkur et al., 2009؛ Jubany-Marí et al., 2010). یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع اکسیژن فعال سرعت بیشتری پیدا می‌کند پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است، که باعث تولید آلدئیدهایی مثل مالون دآلدئید و ترکیباتی مثل اتیلن می‌شود (Sharma and Shanker., 2005). برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده یک سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی با کارایی بالا در گیاهان وجود دارد، که می‌تواند آنها را از بین ببرد (Shaomin and Jiang, 2009).

Email:anousheh_zakeri@yahoo.com

عکس العمل گیاهان به تنش خشکی بـه ماهیـت کمبـود آب وابسته است و می‌توانـد بـه صـورت ۱- پاسـخ‌هـای فیزیولـوژیکی بـه تـنش (پاسـخ کوتـاه مـدت) ۲- تطـابق غیروراثتی با سطح مشخصی از تنش خشکی (پاسـخ میـان مدت) ۳ـ تطابق قابل توارث با خشکی (پاسخ بلند مدت) طبقه بندی شود. پاسخ کوتاه مدت به تنش آب بـا کـاهش حداکثر جذب CO_2 همراه اسـت. از جملـه واکـنش‌هـای میـان مـدت بـه خشـکی، تنظـیم اسـمزی بوسـیله تجمـع نمک‌های آلی بوده و پاسخ بلند مدت بـه خشـکی شـامل الگوهای ژنتیکی می‌باشد (Passarkli, 1999).

آسکوربیک اسید یا ویتامین C از ترکیباتی اسـت کـه بـه وفور در گیاهان یافت می‌شـود. ایـن مـاده دارای چنـدین نقش فیزیولوژیکی در گیاهان است (Jubany-Marí et al., 2010). بـه عنـوان مثـال در فراینـدهـای رشـد و نمـو و متابولیسم شرکت دارد و در برخی واکنش‌های فتوسـنتزی به عنوان کوفاکتور عمل مـی‌کنـد (Zabalza et al., 2008). آسکوربیک اسـید قـادر اسـت یـون‌هـای سـوپر اکسـید ـ رادیکال‌های هیدروکسیل و پر اکسـید هیـدروژن را احیـاء نماید و یا با احیـاء ترکیبـاتی چـون آلفـا ـ توکـوفرول در جـاروب کـردن رادیکـال‌هـا شـرکت کنـد. بـه عبـارتی آسـکوربات بهتـرین و سـود منـد تـرین ترکیـب شـناخته شده‌ای است که تحمل گیاهان را به استرس‌های اکسیداتیو بالا می‌برد (Jubany-Marí et al., 2010).

گیاه کتان گیاهی است یکساله از خانواده لیناسـه کـه بـه صورت علفی نرم ولی ایستاده رشـد مـی‌کنـد (مظفریـان، ۱۳۷۳). دانـه کتـان مهمتـرین مخـزن آلفالینولئیـک اسـید (ALA) است. این اسید یکی از سه اسید چرب معروف از خانواده امگا ۳ می‌باشد. لازم به ذکر است که روغن کتـان علاوه بر داشتن امگا ۳ دارای ویتامین E نیـز اسـت. کتـان روغنی می‌تواند کمبود رطوبت را در دوره رویشی تحمـل کند، ولی به آب فراوان در دوره گلدهی و دانه بندی نیـاز دارد (ایرانژاد، ۱۳۸٦).

هدف ایـن پـژوهش ارزیـابی اثـر محلـول پاشـی اسـید آسکوربیک روی گیاه کتان تحت شرایط خشـکی و تـاثیر آن روی فعالیـت آنـزیم‌هـای کاتـالاز، پراکسـیداز، مـالون دآلدهید و پرولین بود.

مواد و روش ها

بـذرهـای کتـان *Linum usitatissimum* از موسسـه تحقیقـات اصـلاح و تهیـه نهـال و بـذر کـرج در بهـار ۱۳۸۸تهیه گردید. کشت گیاهان و مراحل مختلف پژوهش و آزمایشات مربوط به آنها در مجتمع آزمایشگاهی پیام‌نور واحد تهران انجام گردید. بذرهای سالم و یکنواخت پـس از شستشوی اولیه به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپو کلریت سدیم ۲۰٪ سترون و سپس چندین بار با آب مقطر استریل شستشو داده شد و سپس تعـداد ۱۰ بـذر در گلـدان‌هـایی یک اندازه با دهانه ۷ سانتی متر محتوی بستر استریل لیکا، ماسـه ـ رس ـ خـاک بـرگ (۱:۱:۲) کاشـته و در شـرایط گلخانه‌ای نگهداری شد. آبیاری تا مرحله سه برگی، بـرای همه تیمارها یکسان و مطابق ظرفیت زراعـی انجـام شـد. بعد از آنکه گیاه وارد مرحله سه برگی شد آبیاری تیمارها، آغاز و بدین صورت که: آبیاری برای شاهد مطابق ظرفیت زراعی ـ برای خشکی ملایم ۲/۳ ظرفیـت زراعـی ـ بـرای خشکی شدید ۱/۳ ظرفیت زراعی به مدت دو هفته انجـام شد. سپس غلظت ۸ میلی مولار از اسید آسـکوربیک تهیـه شد و اسپری برگی این مـاده بـروی تیمـارهـای خشـکی شدید و ملایم به مدت یـک هفتـه انجـام گرفـت. بعـد از اعمال ۱۰ روز تیمار گیاهان از بستر لیکا خـارج و جهـت زدودن بقایای لیکا از سطح ریشه گیاهان، ریشه ها ابتدا بـا آب جاری و سپس با آب مقطـر بـه خـوبی شستشـو داده شده و خشـک گردیدنـد. بعـد از خشـک شـدن سـطحی ریشه‌ها، اندام هوایی و ریشه‌ها از محل یقه از کلیه گیاهان جدا و سنجش‌های زیر برای آنها انجام شد.

سنجش مالون دآلدهید

۰/۲ گرم از بافت تازه برگی تـوزین و در هـاون چینـی حاوی ۵ میلی‌لیتر اسـید تـری کلـرو اسـتیک (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد.عصـاره حاصـل بـا اسـتفاده از دسـتگاه سانتریفوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ گردید. به ۱ میلی‌لیتر از محلـول‌روئـی حاصـل، ٤/۵ میلـی‌لیتـر از

محلول TCA ۲۰ درصد، که حاوی ۰/۵ درصد اسیدتیو باربیتوریک (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده موردنظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ٦۰۰ نانومتر تعیین و از میزان کسر گردید. غلظت کمپلکس MDA-TBA زیر محاسبه و بر حسب $\mu molg^{-1}FW$ بیان شد (Heath and Pacher, 1969).

اندازه‌گیری غلظت پرولین

۰/۵ گرم از بافت تر گیاهی را توزین و در هاون چینی حاوی ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد سائیده شد. مخلوط همگن به دست آمده با استفاده از واتمن شماره ۲ صاف گردیده، از هر کدام از محلول‌های حاصل ۲ میلی‌لیتر برداشته و در لوله‌های آزمایش ریخته و سپس به هریک ۲ میلی لیتر معرف نینهیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص افزوده شد. لوله‌ها را به مدت یکساعت در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده و سپس جهت قطع آزمایش‌ها در حمام یخ قرار گرفتند. به هرکدام ۲ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و لوله‌ها را به شدت تکان داده شد. آنگاه ۲۰ ثانیه نگه داشته تا دو فاز کاملاً مجزا تشکیل گردید. مقدار معینی از لایه رنگی فوقانی را جهت سنجش غلظت پرولین در دستگاه اسپکتروفتومتر گذاشته و جذب آن را در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد پرولین، مقدار این ماده محاسبه و بر حسب $\mu molg^{-1}FW$ اعلام شد (Bates et al., 1973).

سنجش فعالیت آنزیم‌های پر اکسیداز و کاتالاز

اندازه‌گیری عصاره آنزیمی

یک گرم از بافت تر گیاه را در هاون چینی محتوی ۵ میلی لیتر بافر تریس HCl ۵ میلی مولار pH ۷/۵ در حمام یخ سائیده شد. بعد از ۱۰ دقیقه نگهداری در یخ آنها را به سانتریفوژ یخچال‌دار به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انتقال داده بعد از پایان ۲۰ دقیقه لوله ها را خارج کرده و محلول رویی را از چند لایه پارچه عبور داده و عصاره پروتئینی حاصل برای سنجش آنزیم‌های زیر به کار رفت (Sudhaker et al., 2001).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

پس از استخراج عصاره پروتئینی مقدار ۲ میلی‌لیتر بافر تریس ۱۰۰ میلی‌مولار با pH ۷، ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار و ۰/۲ میلی‌لیتر پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار را در حمام یخ با ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط و پس از ۲ دقیقه منحنی تغییرات جذب را با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۲۵ نانومتر خوانده و بر حسب $\mu mol\ (H_2O_2)\ mg^{-1}\ (protein)\ min^{-1}$ بیان شد (Kar and Mishra., 1976).

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

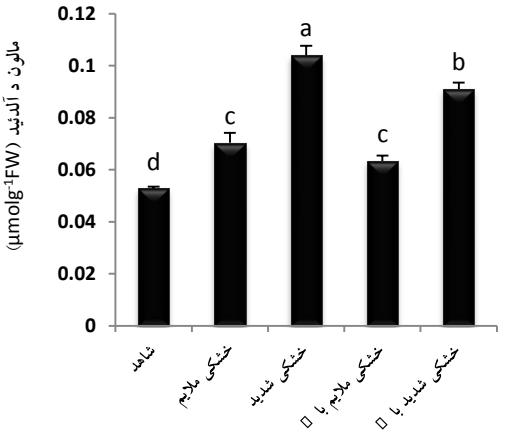
پس از استخراج عصاره پروتئینی مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH ۷ و ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد را در حمام یخ با ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و پس از ۲ دقیقه منحنی تغییرات جذب را با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده و بر حسب $\mu mol\ H_2O_2)\ mg^{-1}\ (protein)\ min^{-1}$ بیان شد (Aebi, 1984).

تجزیه و تحلیل داده ها

این تحقیق با ٤ تیمار و ۳ تکرار انجام شد و برای بررسی نتایج و مقایسه میانگین‌ها از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس ANOVA و سپس از آزمون دانکن $P\leq ۰/۰۵$ استفاده شد و نمودارهای مربوطه نیز در برنامه نرم‌افزاری Excel رسم گردید و کلیه کارهای آماری توسط نرم‌افزار SPSS15 انجام گرفت.

نتایج

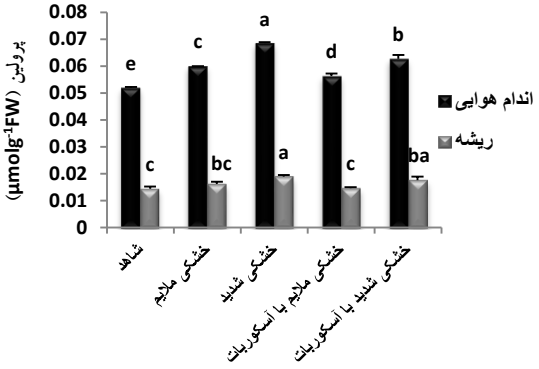
مقدار مالون دآلدئید نسبت به شاهد افـزایش معنـی‌داری یافت و محلول پاشـی اسـید آسـکوربیک توانسـت میـزان مالون دآلدئید را تا حدی کاهش دهد (شکل ۱).



شکل ۱: اثر متقابل خشکی و اسید آسکوربیک (۸ میلی مولار) بر مقدار مالون د آلدهید

* حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد. خط عمود نشان دهنده SD می‌باشد.

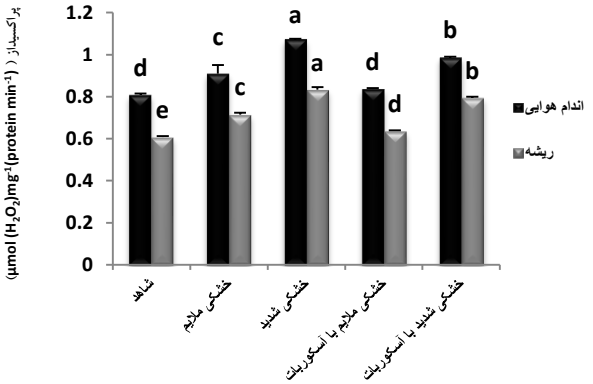
غلظت پـرولین هـم در انـدام هـوایی و ریشـه افـزایش معنی‌داری را با شاهد نشان داد، اما ایـن افـزایش در انـدام هوایی مشـهودتر بـود. محلـول پاشـی اسـید آسـکوربیک توانست غلظـت پـرولین را در ریشـه تـا نزدیکـی شـاهد کاهش دهد، اما در اندام هوایی این کاهش به سطح شـاهد نرسید (شکل ۲).



شکل ۲: اثر متقابل خشکی و اسید آسکوربیک (۸ میلی مولار) بر مقدار پرولین

* حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد. خط عمود نشان دهنده SD می‌باشد.

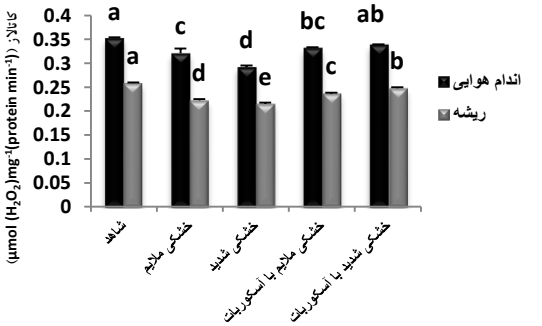
فعالیت پراکسیداز با افـزایش تـنش افـزایش معنـی‌داری یافت و این افزایش در اندام هوایی مشهودتر از ریشه بود. اسید آسکوربیک فعالیت این آنزیم را تا حـدودی تعـدیل داد به گونه‌ای که ایـن کـاهش در خشـکی ۲/۳ تـا سـطح شاهد ادامه یافت (شکل۳).



شکل ۳: اثر متقابل خشکی و اسید آسکوربیک (۸میلی مولار) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه

* حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد. خط عمود نشان دهنده SD می‌باشد.

فعالیت کاتالاز با افـزایش تـنش کـاهش یافـت و اسـید آسکوربیک توانست فعالیت این آنزیم را تاحـدی افـزایش دهد (شکل ٤).



شکل ٤: اثر متقابل خشکی و اسید آسکوربیک (۸میلی مولار) بر فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی و ریشه

* حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد. خط عمود نشان دهنده SD می‌باشد.

بحث

اثر خشکی و آسکوربات برمالون دآلدئید

رادیکال‌های سوپر اکسید تولید شده توسط خشکی باعث پر اکسیداسیون لیپید می‌شود. حاصل پر اکسیداسیون لیپیدهای غشاء ترکیباتی مانند مالون د آلدهید ـ پروپانول ـ بو تانول ـ هگزنان ـ هپتانان ـ پروپانال دی متیل استیل خواهد بود. این مواد به عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها استفاده می‌شود و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها شاخصی برای برای تنش اکسیداتیو می‌باشد (Heat and Pacher, 1969). در این تحقیق تنش خشکی مقدار مالون دآلدئید را افزایش داد. گزارشات متعددی مبنی براثر تنش خشکی بر میزان مالون د آلدهید وجود دارد. گزارش شده حتی در خشکی ملایم نیز مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدهیدها در *Poa pratensis* افزایش می‌یابد (Fu and Haung, 2001). مقدار مالون دآلدئید در سه ژنوتیپ گندم تحت اثر خشکی افزایش می‌یابد (Sairam et al., 1998). اثبات شده که مقدار مالون دآلدئید تولیدی در طی تنش خشکی در بین کولتیوارهای مختلف ذرت ـ موز ـ دانه رست‌های برنج متفاوت است. به طوری که گونه‌های مقاوم با افزایش توان آنتی اکسیدانی قادر به جاروب کردن H_2O_2 هستند با کاهش H_2O_2 مقدار مالون دآلدئید کمتری ایجاد می‌شود مقدار مالون دآلدئید تولیدی کولتیوارهای حساس بیشتر است (Inze and Montage., 2000; Sharma and Shanker., 2005). افزایش مشاهده شده مقدار مالون د آلدئید در این تحقیق در شرایط تنش خشکی ناشی از تولید گونه‌های اکسیژن فعال مثل رادیکال‌های سوپر اکسید ـ پر اکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسید در شرایط تنش اکسیداتیو است. گونه‌های اکسیژن فعال منجر به پر اکسیداسیون لیپیدها در نتیجه آسیب به غشاهای سلولی مخصوصاً غشاهای کلروپلاست شده است. اسید آسکوربیک با اثر روی آنزیم‌های آنتی اکسیدان پر اکسیداسیون لیپیدهای گیاه آرابیدوپسیس را در برابر گرما و تنش خشکی محافظت می‌کند (Larkindale and Knight, 2002).

مدارکی نیز وجود دارد که اسید آسکوربیک با اثر روی H_2O_2 توان آنتی اکسیدانی را افزایش داده و از گیاه در برابر تنش اکسیدااتیو محافظت می‌کند (Ganesan and Thamson., 2001).

در این پژوهش اسید آسکوربیک با کاهش پر اکسیداسیون لیپیدها از طریق اثر بر مکانیسم‌های دفاع آنزیمی و با اثر روی H_2O_2 توان آنتی اکسیدانی را افزایش داده، گیاه کتان را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند.

اثر خشکی و آسکوربات بر پرولین

افزایش پرولین در تنش خشکی نشان دهنده نقش این اسید امینه در تنظیم فشار اسمزی است (Ashraf and Foolad, 2007). تنظیم اسمزی در گیاهان مکانیسم عمده اجتناب از تنش‌های آبی در محیط‌های خشک و شور است و به طور کلی به کاهش پتانسیل اسمزی در اثر تجمع مواد محلول در شرایط تنش خشکی و شوری اطلاق می‌گردد. در آزمایشی که روی کتان انجام شد، تنش خشکی موجب افزایش میزان پرولین شد که با افزایش شدت تنش، این اسید آمینه نیز زیاد شد این به این معنی است که پرولین به عنوان یک محافظ در برابر تنش عمل می‌کند. نتایج بدست آمده با کار انجام شده روی نیشکر (Suriyan and Chalermpol, 2009) و گندم و جو و گوجه فرنگی نیز گزارش شده است (Tynakova, 1967; Taylor et al., 1980) نیز مطابقت دارد. در دانه رست‌های ذرت تنش دیده، کم شدن پروتئین همراه با افزایش آمینو اسیدهای آزاد بوده که می‌تواند به ممانعت از سنتز پروتئین و افزایش هیدرولیز پروتئین مربوط باشد (Fendia et al., 2003). که علاوه بر افزایش غلظت پرولین در سطوح مختلف خشکی نسبت به شاهد، محتوای پرولین اندام هوایی نیز بیش از ریشه ها بوده و دلیل بالاتر بودن، این است که پرولین در قسمت رأسی و منطقه طویل شدگی

ریشه سنتز شده، از طریق تعرق به بخشهای هوایی منتقل می‌شود، از اینرو میزان تجمع آن در برگها بیشتر است (Verslues and Sharp, 1999).

مقادیر بالای پرولین باعث کاهش میزان رادیکال‌های آزاد در پاسخ به تنش اسمزی شده توتون‌های تراریخت شده با ژن P5SC در شرایط متوسط 200mM NaCl را بهبود بخشید. این یافته ها باعث روشن تر شدن هرچه بیشتر تنظیم بیوسنتز پرولین در گیاهان و نقش آن در کاهش تنش اکسایشی و تأییدی بر نقش پذیرفته شده آن به عنوان اسمولیت بود (Hong et al., 2003).

اثر خشکی و آسکوربات بر آنزیم‌های آنتی اکسیدان

بررسی تنش خشکی روی گیاه یونجه در مرحله جوانه‌زنی نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز ـ کاتالاز تحت شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد (Wang et al., 2009). تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان یکی از مکانیسم‌هایی است که در گیاهان برای افزایش تحمل به تنش رخ می‌دهد. آنزیم‌های آنتی اکسیدان مسئول پاکسازی گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده ناشی از تنش هستند. Ozkuar و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه *Capparis ovata* در شرایط تنش خشکی به نتایج مشابهی دست یافتند.

تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم پر اکسیداز می‌شود.این آنزیم هم در سیتوزول و هم کلروپلاست وجود دارد و می‌تواند به گونه ای موثر H_2O_2 را حذف کند. پس افزایش این آنزیم در تنش خشکی نشان دهنده تجمع H_2O_2 در این شرایط است (Jiang and Nhunag, 2001). گزارش شده که که فعالیت آنزیم در برگهای بالغ گیاهی علفی در خشکی شدید تا ۳ برابر شاهد افزایش می‌یابد (Jiang and Nhunag, 2001). تنش خشکی از طریق افزایش پراکسیداز تا حد امکان اثرات زیان‌بار گونه‌های فعال اکسیژن بر غشاء سلولی جلوگیری می‌کند (Ben Ahmed et al., 2009). آسکوربات باعث تنظیم فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان و تعدیل میزان O_2, H_2O_2 می‌شود (Shiu and Lee, 2005).

در این آزمایش فعالیت کاتالاز در تیمار خشکی کاهش یافت. کاهش فعالیت کاتالاز تحت تنش خشکی در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده است (Jiang and Nhunag, 2001). کاهش فعالیت این آنزیم ممکن است در اثر غیر فعال سازی نوری این آنزیم و یا باز داری سنتز آنزیم جدید در تاریکی (Polle, 1997) باشد. کاتالاز با فعالیت آنتی اکسیدانی خود H_2O_2 را به H_2O و O_2 تبدیل کرده و واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد را بلوکه می‌کند (Rakmini et al., 2004). لذا آزاد شدن آن در شرایط تنش باعث کاهش اثرات زیانبار گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود.

نتیجه گیری نهایی

در این تحقیق مقدار مالون دآلدئید و پرولین و همچنین فعالیت آنزیم پر اکسیداز در تنش خشکی افزایش یافت و این افزایش در اندام هوایی بیشتر از ریشه بود، اما فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی و ریشه روندی کاهشی را نشان داد. همچنین به کار بردن اسید آسکوربیک توانست تحمل این گیاه را در برابر تنش خشکی بالا برد.

منابع

ایران نژاد، ح. (۱۳۸٦). زراعت گیاهان دارویی شاهدانه ـ کتان روغنی ـ کرچک. صفحه ٦۳-۵۷.

مظفریان، و.ا. (۱۳۷۳). رده بندی گیاهی. صفحه ۳۱۲

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. Methods Enzymology, 105: 121-126

Ashraf, M., and Foolad, M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance.Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.

Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teare, D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207

Ben Ahmed, Ch., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhris, M. and Ben Abdallah, F. (2009). Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and Experimental Botany, 67:345-352.

Efeoğlu, B., Ekmekçi, Y. and Çiçek, N. (**2009).** Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. South African Journal of Botany, 75: 34-42.

Fendia, I.S., Georgieva, K. and Grigova, I. (2003). Light-dark changes proline content of barley leaves under salt stress. Planrtarum, 45: 59-63.

Fu, J. and Haung, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool season gresses to localized drought stress. Environmental and Experimental Botany, 45: 105-114.

Ganesan, V., and Thamson. (2001). Salcylic acid response in rice: influence of salicylic acid on H_2O_2 accumulation and oxidative stress. Plant Science, 160: 1095-1106.

Heat, R.L. and Pacher, L. (1969). Photo peroxidation in isolated chloroplast. 1.kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125: 186–198.

Hong, S.W., Kwon, S.J., Sohn, S.I., Kim, N.S. and Kim, J.C. (2003). Characterization of embryogenesis-related Pbmyb genes during in vitro differentiation of *Pimpinella brachycarpa.* Korean Journal of Genetics, 25: 293-300.

Inze, D. and Montagu, M.V. (2000). Oxidative stress Tj international Ltd ,padstow ,cornawall. Great Britain, 321 page.

Jiang, R. and Hunag, N. (2001). Drought and Heat stress injure two cool season Turfgrass in relation to antiaxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science Society of America, 41: 436-442.

Jubany-Marí, T., Munné-Bosch, S. and Alegre., L. (2010). Redox regulation of water stress responses in field-grown plants. Role of hydrogen peroxide and ascorbate. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 351-358.

Kar, M. and Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase and poly phenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology, 57: 315-319.

Larkindale, J. and Knight, M.R. (2002). Protection against heat stress induced oxidative damage in Arabidopsis involves calcium, abscisic acid, ethylene and salicylic acid. Plant Physiology, 88: 833-837.

Ozkur, O.F.O., Bor, M. and Turkan, I. (2009). Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte (*Capparis ovata*) Desf. to drought. Environmental and Experimental Botany, 66: 487-492.

Passarkli, M. (1999). Handbook of plant and crop stress.Marcel Dekker Inc.976 pages.

Polle, A. (1997). Defense against photoxidative damage implants. p. 7830813. in: J. scandalis, ed. oxidative stress and the molecular biology of oxidative defense. Cold spring harbar laboratory press,,cold spring harboor, IVY Biologia Plantarum, 41: 387-394.

Rakmini, M.S., Benedicate, D.S. and Vivanads. (2004). Superoxid dismutase and catalase activities and their correlation with malondealdehyde in schizophrenic patients. Indian Journal Clinical Biochemistry, 19: 114-118.

Sairam, R.K., Deshumk, P.S. and Shukla, D.S. (1998). Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in Wheat. Journal Agronomy Crop Science, 178: 171-187.

Shaomin, B. and Yiwei, Jiang. **(2009)**. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. Scientia Horticulturae, 120: 264-270.

Shiu, C.T. and Lee, T.M. **(2005**). Ultraviolet induced oxidative response of the ascorbate glutathione cycle in marinemacrology *Ulva fascita*. Journal of Experimental Botany, 56: 2851-2865.

Sharma, P. and Shanker, R. (**2005)**. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing seedling. Journal of Plant and Growth Regulation, 46: 209-221.

Sudhakar Chinta, A., Lakshmi, S. and Giridara, K. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Science, 161: 613-619.

Suriyan, Ch. and Kirdmanee, Ch. (2009). Proline Accumulation, Photosynthetic Abilities and Growth Characters of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Plantlets in Response to Iso-Osmotic Salt and Water-Deficit Stress. Agricultural Sciences in China, 8: 51-58.

Taylor, A.G. Kirkham, M.B. and Motes, J.E. (1980). The effect of water stress on germination and seedling growth of three species of tomato. American Society For Horticultural Science, 15: 310-317.

Tynakova, L.A. (1967). Distribution of the free and baund proline and of the free hydroxyl proline in the separate organs of wheat plants during drought. Bulg. Sciences, 20: 583-586.

Verslues, P.E. and Sharp, R.E. (1999). Proline accumulation in Maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. II. Metabolic source of increased proline deposition in the elongation zone. Plant Physiology, 119: 1349-1360.

Wen-Bin, W., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P., and Kwak, S.S. (**2009**). Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology and Biochemistry, 47: 570-577.

Zabalza, A., Gálvez, L., Marino, D., Royuela, M., Arrese-Igor, C., González, E.M. (**2008).** The application of ascorbate or its immediate precursor, galactono-1,4-lactone, does not affect the response of nitrogen-fixing pea nodules to water stress. Journal of Plant Physiology, 165: 805-812.