



## پروپیل پروتئینی گندم تحت تنش خشکی و نانوکلات پتاسیم

نقیسه اصغری<sup>۱</sup>، سدابه جهانبخش گده کهریز<sup>۲\*</sup>، علی عبادی<sup>۳</sup> و نصیبه توکلی<sup>۴</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۶

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۵/۱۱/۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۴

### چکیده

سیستم‌های مقاومتی گیاهان از جمله گندم در مقابل تنش‌ها توسط روش‌های متعددی از جمله مواد شیمیایی مانند نانوکلات پتاسیم تحریک می‌گردد. به منظور بررسی پروپیل پروتئینی گندم تحت تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. فاکتور اول شامل تنش خشکی در سه سطح (۸۵، ۶۰ و ۳۵ درصد ظرفیت زراعی) و فاکتور دوم سه رقم گندم (زاگرس، چمران و کوهدشت) و فاکتور سوم سه سطح نانوکلات پتاسیم با غلظت‌های (صفر، ۲۵، ۴۵ و ۶۵ ppm) بودند. تنش کم‌آبی در مرحله‌ی سه برگچه‌ای بر اساس ظرفیت زراعی به گلدان‌ها اعمال و سه روز پس از آن، نانوکلات پتاسیم با غلظت‌های مشخص روی برگ‌های گندم محلول‌پاشی شدند. بررسی‌ها نشان دادند در اثر تیمار نانوکلات پتاسیم غلظت اسید آمینه پرولین و کربوهیدرات که در مکانیسم‌های دفاعی گیاه نقش اساسی دارند، افزایش یافتند. میزان فعالیت کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز با افزایش غلظت نانوکلات پتاسیم کاهش و برعکس میزان فعالیت پراکسیداز افزایش یافت. نتایج حاصل از مطالعات پروتئومیکسی با استفاده از الکتروفورز دو بعدی نشان داد که بروز پروتئین‌های مؤثر که ناشی از نانوکلات پتاسیم در ارتباط مستقیم با سیستم دفاعی به صورت لکه‌های ۱۱، ۶، ۵، ۱۴ و ۱۹ ظاهر شدند. پروتئین‌های بیان شده در این آزمایش شامل برخی از آنزیم‌های سیستم دفاعی مانند آسکورات پراکسیدازها، گلوتاتیون S ترانسفرازها و پروتئین‌های شوک حرارتی بودند. همچنین، آنزیم‌های کلیدی چرخه گلیکولیز و چرخه تری کربوکسیلیک اسید شامل ایزوسیترات دهیدروژناز، تریوز فسفات ایزومراز، فسفوگلیکونات دهیدروژناز، گلیسرآلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز، فروکتوز بیس فسفات بیان شدند این امر نشانگر این موضوع می‌باشد که تیمار نانوکلات پتاسیم، سطح گلوکز، فروکتوز و ساکارز و فراوانی سایر آنزیم‌های مرتبط با تنش‌های زیستی و غیر زیستی را افزایش می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** اسیدهای آمینه، پروتئومیکس، تنش خشکی، گندم، نانوکلات پتاسیم.

۱- دانش آموخته بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۴- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

### مقدمه

گندم از تیره‌ی غلات یا پوآسه یا گرامینه و از رده تک‌لپه‌ی‌ها می‌باشد و به دو دسته گندم نان و گندم دورم تقسیم می‌شود. گندم اولین غله و مهم‌ترین گیاه زراعی دنیا است (Arzani, 2008). کمبود آب از مهم‌ترین مشکلات مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد که بر روی رشد و نمو گیاهان موثر است. کاهش مقدار آب قابل دسترس گیاه منجر به تنش خشکی و بروز تغییرات مناسب مرفولوژیک و فیزیولوژیک در گیاه می‌شود (Daneshian *et al.*, 2002). استفاده از نانو کودها منجر به افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی، کاهش سمیت خاک، به حداقل رسیدن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد کود و کاهش تعداد دفعات کاربرد کود می‌شود. از جمله این نانو کودها می‌توان نانوکلات پتاسیم را نام برد که به علت نقش‌های مهمی که عنصر پتاسیم در گیاهان بر عهده دارد، در شرایط تنش خشکی میزان بالای این عنصر در گیاه اثرات منفی ناشی از تنش را کاهش می‌دهد (Mauch *et al.*, 2001). در صورت وجود تنش خشکی با اعمال تیمار نانوکلات پتاسیم یکی از واضح‌ترین تغییراتی که رخ می‌دهد، تغییر در میزان بیان پروتئین‌ها خواهد بود.

تنش آبی موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (Hajiboland and Joudmand, 2009) و تحت شرایط تنش آبی و دیگر تنش‌های محیطی، انواع اکسیژن فعال تولید می‌شود (Zhu, 2000). گونه‌های فعال اکسیژن به دلیل تاثیر منفی بر DNA، پروتئین‌ها، چربی‌ها و رنگدانه‌ها، صدمات سلولی زیادی را موجب می‌شوند (Ashraf, 2009). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات با وزن مولکولی پایین این توانایی را دارد که بدون آن که خود مورد تغییر قرار گرفته و به مواد مخرب

رادیکال تبدیل شود، ROS را مهار کند (Mittler *et al.*, 2004). گیاهان برای مهار  $H_2O_2$  دارای دو نوع مکانیزم آنتی‌اکسیدانی بوده که شامل سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی و آنزیمی می‌باشد (Singh Gill and Tuteja, 2010). القای آنزیم‌های پاک‌سازی کننده‌ی گونه‌های فعال اکسیژن از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز از رایج‌ترین مکانیسم‌ها برای سمیت زدایی ROSهای تولید شده در طول تنش می‌باشد (Gressel and Galun, 1994).

پروتئین‌ها آخرین محصولات ساخته شده از روی ژنوم در سلول‌های زنده هستند (Beranova-Giorgianni, 2003). تغییرات پس از ترجمه نقش زیادی در پیام‌دهی و عملکرد یک سلول دارند، بیش از ۲۰۰ نوع از این تغییرات بر روی پروتئین‌های مختلف شناسایی شده که از مهم‌ترین آنها فسفریلاسیون، استیلاسیون، گلیکوزیلاسیون، تیتراسیون، یوبی کونی تیناسیون را می‌توان نام برد (Hirsch *et al.*, 2004).

مجموعه‌ای از پروتئین‌ها که در یک زمان معین، تحت مجموعه‌ای از شرایط خاص در یک مکان معین زیست‌شناختی بیان می‌شوند را پروتئوم می‌نامند. از آنجایی که پروتئین‌ها مولکول‌های کلیدی ساختاری و هماهنگی عملکرد و فعالیت‌های سوخت و سازی در سیستم‌های زیست‌شناختی هستند، برای شناخت کامل این سیستم‌ها، دانستن ویژگی‌های مولکولی پروتئوم ضروری است (Anderson, 2005).

در این تحقیق سه رقم گندم نان انتخاب و واکنش آنها در مقابل تنش خشکی بررسی و مورد مطالعه قرار گرفت و هدف این پژوهش، ارزیابی خصوصیات فیزیولوژیک و پروتئومیکس گندم در شرایط تنش تحت تیمار با نانوکلات پتاسیم

استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Kar and Mishra, 1976). برای اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات، ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ به عصاره الکلی از برگ‌ها اضافه شد. مایع رویی جدا گردید سپس دو بار و در هر بار ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ به بخش جامد باقی مانده اضافه شد و بخش مایع رویی به لوله آزمایش منتقل شده و در نهایت ۱۵ میلی‌لیتر عصاره به دست آمد. عصاره‌ی حاصل، سانتریفیوژ و از روشناور<sup>۱</sup> برای اندازه‌گیری قند محلول استفاده شد (Irigoyen et al., 1992). جهت اندازه‌گیری پرولین از جوان‌ترین برگ‌ها با استفاده از روش بیتز و همکاران (Bates et al., 1973) انجام گرفت. به این صورت که مقدار ۰/۱ گرم بافت برگ‌ی در ۲ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳/۳٪ هموزن شد و سانتریفیوژ و سپس در لوله جداگانه دیگری، به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید اسیتیک گلاسیال خالص اضافه شد. پس از اضافه کردن ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر کدام از لوله‌ها مقدار جذب در دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. جهت تعیین غلظت مقدار کمی پروتئین کل نیز از روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده شد. ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد با ۱۰ میکرولیتر نمونه پروتئینی و ۲۹۰ میکرولیتر بافر استخراج کاملاً مخلوط شدند. مقدار کمی پروتئین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

جهت مطالعه تغییرات بیان پروتئین در برگ گندم با روش الکتروفورز ۲ بعدی ابتدا استخراج پروتئین با استفاده از روش دامروال و همکاران

می‌باشد تا بتوان گامی در شناخت مکانیسم‌های عمل در شرایط این نوع تنش‌ها با معرفی پروتئین‌های کاندید مناسب برداشت.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول تنش خشکی در سه سطح (۸۵، ۶۰ و ۳۵ درصد ظرفیت زراعی) بود، فاکتور دوم شامل سه رقم گندم و فاکتور سوم شامل نانوکلات پتاسیم با غلظت‌های (صفر، ۲۵، ۴۵ و ۶۵ ppm) بود. تنش کم‌آبی در مرحله سه برگ‌چاهی بر اساس ظرفیت زراعی به گلدان‌ها اعمال شد و سه روز پس از اعمال تنش کم‌آبی نانوکلات پتاسیم با غلظت‌های مشخص شده روی برگ گندم محلول‌پاشی شد. برای سنجش میزان کاتالاز ۲/۵ میلی‌لیتر بافر تریس به همراه ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه با ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Kar and Mishra, 1976). برای سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز ۱/۵ میلی‌لیتر بافر تریس با ۰/۴ میلی‌لیتر پیروگالل و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و در بن‌ماری ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفت، منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Kar and Mishra, 1976).

برای اندازه‌گیری فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز به ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول واکنش ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر با

۱ - supernatant

میلی آمپر استفاده شد. برای رنگ آمیزی لکه های پروتئینی از Coomassie Brilliant Blue (۲۵ گرم آمونیوم سولفات، ۲۵ میلی لیتر اتانول، ۰/۳ گرم کواسی بریلیانت بلو G-250، ۲۵ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد) استفاده شد.

داده های کمی پروتئین های محلول که به روش برادفورد تعیین گردید با نرم افزارهای آماری SAS تجزیه و تحلیل آماری شده و شکل های داده های کمی پروتئین با استفاده از نرم افزارهای گرافیکی Excel تهیه شد. تصاویر ژل تک بعدی توسط نرم افزار UVIDocMW و تصاویر ژل دو بعدی توسط نرم افزارهای Progenesis Samespots Software ver2.0 و بر پایه بار الکتریکی (نقطه ایزوالکتریک یا pI) و اندازه (جرم مولکولی نسبی یا MW) ارزیابی شدند. لکه های پروتئینی حاصل با طیف سنجی جرمی MS/MS تجزیه شدند.

### نتایج و بحث

**پروکلین:** نتایج نشان داد که اثر متقابل سه جانبه رقم، تنش و غلظت نانوکلات پتاسیم بر میزان پروکلین معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان پروکلین در اثر محلول پاشی نانو کلات پتاسیم با غلظت ۴۵ ppm در رقم کوهدشت تحت شرایط نرمال مشاهده شد و کمترین میزان پروکلین نیز مربوط به کاربرد ۲۵ ppm نانوکلات پتاسیم در رقم زاگرس و تحت شرایط بدون تنش (FC ۰/۸۵) بود (شکل ۱). با این حال در رقم چمران، کوهدشت و زاگرس به ترتیب شرایط تنش شدید، بدون تنش و تنش متوسط بیشترین پروکلین را نشان دادند. همچنین تاثیر مثبت کاربرد نانوکلات در افزایش پروکلین در شرایط تنش در رقم کوهدشت و چمران مشهود بود. پروکلین یک اسمولیت خنثی بوده که ساختارهای سلولی را

(Damerval *et al.*, 1986) انجام شد. بدین منظور ابتدا ۱ گرم از بافت گیاهی با ۱ میلی لیتر محلول استخراج تری کلرو استیک اسید هموزن شد. عصاره ی پروتئینی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس محلول شست و شو (۱۰۰ میکرولیتر مرکاپتواتانول، ۱۰۰ میلی لیتر استون) اضافه شد. برای استخراج پروتئین، محلول لیزکننده (۴/۸ گرم اوره، ۱/۵۲ گرم تیواوره، ۴۰۰ میلی گرم CHAPS، ۱۰۰ میکرولیتر آمفولیت) اضافه شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۵ درجه سلسیوس با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد اول الکتروفوز طی دو مرحله Focusing و Rehydration صورت گرفت. برای این منظور از دستگاه Bio Rad IEF CELL و نوارهای IPG با طول ۱۷ سانتی متر با pH=۷/۵ استفاده شد. جهت انجام Rehydration از ۸۵۰ میلی گرم پروتئین در ۳۰۰ میکرولیتر بافر Rehydration استفاده شد. در مرحله Focusing نوارها در دستگاه Bio Rad IEF CELL طبق برنامه تعریف شده قرار گرفتند. بعد از تمام شدن بعد اول، استریپ ها داخل محلول متعادل سازی به مدت ۱۵ دقیقه گذاشته شدند. سپس برای انجام الکتروفورز پروتئین در بعد دوم از روش SDS-PAGE با ژل جدا کننده ۱۲٪ و روش لاملی و همکاران (Laemmli, 1970) استفاده شد. به این صورت که محلول جدا کننده به داخل فضای بین دو شیشه ریخته شد، بعد از انعقاد ژل تا ارتفاع نیم سانتی متری از بالا زل متراکم کننده اضافه شد. دستگاه الکتروفورز ابتدا روی ۳۰ میلی آمپر قرار داده شد تا پروتئین ها به طور کامل به داخل ژل بالایی نفوذ کند، پس از وارد شدن پروتئین ها به داخل ژل پایینی از ۴۰

تنظیم اسمزی شرکت دارند. کربوهیدرات‌ها و پرولین قادرند که نقش سیگنال‌های متابولیکی را ایفا کرده، بنابراین بر روی پاسخ فیزیولوژیک و تنظیم متابولیکی به شرایط تنش تاثیرگذار هستند (Turkan *et al.*, 2011).

**کاتالاز:** اثر تنش کم‌آبی، ارقام گندم و غلظت نانوکلات پتاسیم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش غلظت نانوکلات پتاسیم و تشدید تنش، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام چمران و کوهدشت کاهش یافت اما در رقم زاگرس کاربرد نانوکلات پتاسیم موجب افزایش فعالیت کاتالاز گردید. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در رقم زاگرس تحت غلظت ۴۵ ppm در تنش متوسط (۶۰٪ ظرفیت زراعی) و کمترین میزان آن نیز در رقم کوهدشت تحت غلظت ۲۵ ppm نانوکلات پتاسیم در تنش ۸۵٪ قابل مشاهده بود (شکل ۳). نتایج نشان داد که فعالیت کاتالاز در رقم چمران در شرایط بدون تنش و در رقم زاگرس تحت تنش‌های متفاوت بیشتر بود. از جمله پاسخ‌های گیاهان به انواع تنش‌های زنده و غیرزنده، انتشار اکسیژن فعال مانند پراکسید هیدروژن می‌باشد. نقش پراکسید هیدروژن در مکانیسم دفاعی گیاه اهمیت ویژه‌ای داشته و در مسیرهای انتقال سیگنال که از عوامل فعال شدن سایر مکانیسم‌های دفاعی می‌باشد، درگیر می‌شود. از آنجایی که کاتالاز به حفظ هموستازی اکسیژن فعال در زمان ایجاد تنش کمک می‌کند، فعالیت آن در گیاه به هنگام تنش افزایش یافته (Magbanua *et al.*, 2007) و سنتز آن یک پاسخ سازگار یافته در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد (Mittler, 2002). با اینکه در هر سه رقم کاتالاز کاهش پیدا کرده، اما اختلاف

محافظت کرده و منجر به پایداری آنزیم‌ها می‌شود (KaviKishor *et al.*, 2005). بنابراین، افزایش این اسمولیت در این پژوهش ممکن است به تحمل تنش کمک کرده باشد. همچنین، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در این پژوهش نیز ممکن است به علت ویژگی محافظتی پرولین باشد. تنش‌های کم‌آبی موجب تجمع ROS می‌شود. محافظت‌کننده‌های اسمزی می‌توانند رادیکال‌های اکسیژن را خنثی کنند (Hong *et al.*, 2000).

**قندهای محلول:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سه جانبه تیمارهای آزمایشی بر قندهای محلول معنی‌دار بود (جدول ۱). در هر سه رقم گندم، با افزایش غلظت نانوکلات پتاسیم و تشدید تنش، میزان کربوهیدرات‌های افزایش یافت. با این حال بیشترین قند محلول به عدم کاربرد نانوکلات پتاسیم در رقم زاگرس تحت تنش ۶۰٪ ظرفیت زراعی تعلق گرفت که تفاوت معنی‌داری با کاربرد غلظت ۲۵ و ۴۵ ppm از نانوکلات پتاسیم به ترتیب در تنش ۶۰ و ۳۵٪ در رقم کوهدشت نداشت. همچنین، در رقم چمران عدم کاربرد نانوکلات پتاسیم و در شرایط بدون تنش کمترین میزان قند محلول قابل مشاهده بود (شکل ۲). تجمع ترکیبات اسمپروتکتانت<sup>۱</sup> یک پاسخ متابولیکی به تنش می‌باشد که اهمیت آن ایجاد مقاومت در برابر شرایط مضر می‌باشد. توکلی و همکاران (Tavakoli *et al.*, 2014) افزایش معنی‌دار پرولین و قندهای محلول در ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش کم‌آبی را گزارش و بیان کردند که در شرایط تنش قندها اصلی‌ترین محلول‌های آلی هستند که در

دهنده الکترون برای کاتالاز و پراکسیداز عمل نماید. چنین به نظر می‌رسد این افزایش غلظت خود به صورت یک تنش در گیاه عمل می‌کند و موجب بالا رفتن فعالیت آنزیمی می‌شود. کاهش آسیب غشای سلولی در پاسخ به تیمار نانو کلات پتاسیم با افزایش وزن خشک گیاهچه‌های تنش دیده همراه است. این نتیجه منجر به القاء سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بوسیله‌ی نانوکلات پتاسیم و با از بین بردن رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم و یا به کمک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود و در نتیجه خسارت ناشی از این گونه‌های فعال را کاهش می‌دهد و پراکسیداسیون لیپیدی غشاء کاهش می‌یابد ( Hayat and Ahmad, 2007).

**پلی‌فنل اکسیداز:** نتایج تجزیه داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش کم آبی + رقم اثر متقابل غلظت + تنش و اثر متقابل غلظت + رقم بر میزان فعالیت پلی‌فنل اکسیداز معنی‌دار بود. واکنش ارقام مختلف به تنش کم آبی متفاوت بود. رقم چمران فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز را با تشدید تنش افزایش داد اما در ارقام کوهدشت و زاگرس کاهش فعالیت این آنزیم در اثر تنش قابل مشاهده بود. با این حال بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در رقم کوهدشت در حالت بدون تنش ( $0.85 FC$ ) و کمترین میزان فعالیت در حالت بدون تنش ( $0.85 FC$ ) در رقم چمران مشاهده شد (شکل ۵-A). نتایج کاربرد نانوکلات پتاسیم در شرایط تنش نیز متغیر بود. به طوری که، در شرایط عدم مصرف نانوکلات پتاسیم و کاربرد  $65 ppm$  با تشدید تنش فعالیت پلی‌فنل اکسیداز کاهش یافت اما در اثر کاربرد  $25 ppm$  از نانوکلات پتاسیم فعالیت آنزیم با تشدید تنش ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. با کاربرد  $45 ppm$  نانوکلات

بین ارقام در تولید کاتالاز کاملاً مشهود می‌باشد، که نشان‌دهنده‌ی وابستگی کاتالاز به رقم می‌باشد. **پراکسیداز:** اثر متقابل سه جانبه تنش کمبود آب، نانوکلات پتاسیم و ارقام گندم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز در رقم زاگرس در تنش ( $0.85 FC$ ) با غلظت  $45 ppm$  و کمترین میزان فعالیت آن نیز در رقم چمران در تنش  $35\%$  ظرفیت زراعی در اثر عدم مصرف نانوکلات پتاسیم مشاهده شد. واکنش ارقام گندم تحت تنش نسبت کاربرد نانوکلات پتاسیم و شدت تنش در مورد فعالیت این آنزیم متفاوت بود و همان طوری که مشاهده می‌شود در رقم چمران با افزایش غلظت نانو کلات پتاسیم فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش یافت. اما در غلظت  $45 ppm$  نانوکلات پتاسیم فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش معنی‌داری نشان داد. در رقم کوهدشت با افزایش غلظت تیمار اعمال شده و تنش خشکی میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در رقم کوهدشت در غلظت  $45 ppm$  مشاهده گردید. در رقم زاگرس نیز با افزایش غلظت نانوکلات پتاسیم فعالیت پراکسیداز افزایش یافت اما در شرایط بدون تنش فعالیت این آنزیم بیشتر از شرایط تنش بود (شکل ۴). اما به نظر می‌رسد بهترین تیمار برای افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز کاربرد  $45 ppm$  نانوکلات پتاسیم می‌باشد. پراکسیدازها از جمله آنزیم‌هایی هستند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی ایفا می‌کنند و مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن می‌باشند. نانوکلات پتاسیم به طور مستقیم یا غیرمستقیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله پراکسیداز را فعال می‌کند. نانوکلات پتاسیم می‌تواند به صورتی که سوبسترای

(شکل ۶). با افزایش تنش، میزان پروتئین در رقم کوهدشت و زاگرس کاهش یافته ولی در رقم چمران با افزایش تنش میزان پروتئین تغییر آنچنانی نکرده است. تاثیر غلظت نانوکلات پتاسیم بر میزان پروتئین محلول در ارقام مختلف متفاوت بود و بیشترین میزان پروتئین مربوط به رقم کوهدشت در غلظت صفر بوده و کمترین میزان پروتئین کل در رقم زاگرس در غلظت ۴۵ ppm مشاهده شد (شکل ۶). با افزایش غلظت نانوکلات پتاسیم میزان پروتئین در رقم کوهدشت کاهش یافته اما در رقم چمران سیر نزولی را نشان می دهد. در رقم زاگرس در غلظت های متفاوت، میزان پروتئین هم متفاوت بوده است. کاهش میزان پروتئین کل در رقم چمران و زاگرس ممکن است به دلیل کاهش میزان پتاسیم بوده باشد. وقتی در داخل گیاه میزان پتاسیم کاهش یابد، از میزان پروتئین و نشاسته کاسته شده و به جای آن غلظت آمیدها، اسیدهای آمینه و مونوساکاریدها افزایش می یابد. همچنین، از آثار تجمع انواع اکسیژن فعال در اثر وقوع تنش اکسیداتیو، آسیب به پروتئین ها و سایر ترکیبات سلولی می باشد، که ممکن است توسط سیستم آنتی اکسیدانی محافظت شود (Mittler *et al.*, 2004). شرایط نامطلوب محیطی مانند دمای بالا، شوری یا کم آبی می تواند دوامین و سومین ساختار پروتئین ها و نسبت پروتئین های فعال به غیرفعال را تغییر دهد. پروتئین های غیرطبیعی از پروتئین های به هم پیوسته تشکیل شده و افزایش سرعت تجزیه پروتئین ها ممکن است از نتایج شرایط بروز تنش باشد. حفظ چین خوردگی طبیعی پروتئین ها برای انجام نقش آنها اساسی بوده و ممکن است توسط اسموپروتکتانت ها محافظت شود (Bolten and Baskakov, 2001).

پتاسیم نیز افزایش فعالیت پلی فنل اکسیداز قابل مشاهده بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نیز به غلظت ۲۵ ppm در حالت تنش ۶۰٪ FC و کمترین فعالیت آنزیم نیز به غلظت ۶۵ ppm نانوکلات پتاسیم در همان حالت تنش تعلق گرفت (شکل ۵-B). نتایج تاثیر غلظت های مختلف بر ارقام گندم نیز نشان داد که رقم کوهدشت بیشترین فعالیت پلی فنل اکسیداز را داشت و با افزایش غلظت نانواکسید پتاسیم میزان فعالیت آنزیم کاهش یافت به طوری که بیشترین فعالیت پلی فنل اکسیداز در رقم کوهدشت و عدم کاربرد نانواکسید پتاسیم مشاهده شد و کمترین فعالیت آنزیم به رقم چمران و کاربرد ۴۵ ppm نانواکسید پتاسیم تعلق گرفت (شکل ۵-C). فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از تولید بیش از حد اجزای خطی انتقال الکترون در واکنش مهلر جلوگیری می کند (Thipyapong *et al.*, 2004) از آن جایی که هم شرایط رشد (مانند بروز تنش) و هم نوع رقم بر فعالیت پلی فنل اکسیداز تاثیر گذار می باشد (Zand *et al.*, 2009) می توان تفاوت ارقام گندم در میزان فعالیت این آنزیم را تحت شرایط تنش و نرمال توجیه کرد.

**پروتئین کل:** همه اثرات دوجانبه شامل رقم×تنش، رقم×غلظت و تنش×غلظت معنی دار بود. اما اثر سه جانبه رقم×تنش×غلظت معنی دار نشد (جدول ۱). تاثیر تنش کمبود آب بر میزان پروتئین محلول در ارقام مختلف متفاوت بوده و با افزایش شدت تنش در برخی از ارقام کاهش و در بعضی دیگر افزایش پیدا کرد. چنانکه بیشترین میزان پروتئین مربوط به رقم کوهدشت تحت تنش نرمال (FC ۸۵٪) بوده و کمترین میزان پروتئین کل در رقم چمران در تنش شدید (FC ۳۵٪) و تنش نرمال (FC ۸۵٪) مشاهده شد

واکنش‌های متقابل پروتئین‌های شوک حرارتی با پروتئین‌های سایر سلول‌ها، تاخوردن مناسب پروتئین‌های هدف و انتقال آنها را به درون اندامک‌های سلول تسهیل می‌کند. به دلیل تأثیر آنها بر روی کنفورماسیون پروتئین‌های دیگر، HSPها را چاپرون مولکولی نامیده‌اند. این پروتئین‌ها علاوه بر نقش چاپرونی، سلول را در مقابل آسیب‌های ناشی از تنش‌های محیطی محافظت می‌کنند (Ohtsuka *et al.*, 2005). پلی پپتید ۵۰-۵۵ کیلو دالتونی مربوط به روبیسکو، آنزیم کلیدی چرخه‌ی کلوین است و واکنش تبدیل ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات و دی اکسید کربن به دو مولکول ۳-فسفو دی گلیسرات را کاتالیز می‌کند. تنش‌های محیطی می‌توانند موجب غیرفعال شدن قابل برگشت یا غیر قابل برگشت روبیسکو شوند. روبیسکو غیرفعال شده و غیرقابل برگشت به وسیله‌ی نسخه‌های جدید سنتز شده جایگزین می‌شود. به نظر می‌رسد که به واسطه‌ی ناپایدار بودن زیر واحدهای روبیسکو، بیان آنها در گیاه تحت تنش افزایش یافته است. در شرایط تنش شدید و بلند مدت، فراوانی افزایش یافته زیر واحد بزرگ روبیسکو می‌تواند دال بر تخریب بیشتر پروتئین نیز باشد. مدارکی وجود دارد که نشان می‌دهد زیرواحدهای بزرگ روبیسکو می‌توانند توسط گونه‌های اکسیژنی فعال تشکیل شده در جایگاه اتصال یون فلزی شکسته شوند (Hajduch *et al.*, 2001). پلی پپتید ۴۰-۴۵ کیلودالتونی به نظر می‌رسد مربوط به پروتئین متصل به نوکلئوتید گوانین ( $G_1$  protein) زیر واحد آلفا باشد که شامل ۳۰۰-۴۰۰ آمینواسید می‌باشد. پروتئین‌های G گیاهی در انتقال علامت از گیرنده‌های هورمونی شامل هورمون‌های گیاهی جیبرلین و آبسزیک اسید و همچنین در بیان ژن

### الگوهای الکتروفورزی (SDS-PAGE)

پروتئین‌های کل محلول: نمونه‌ها در حالت تیمار و کنترل برای تعیین وزن مولکولی پلی پپتیدها مورد بررسی قرار گرفتند که تعیین وزن مولکولی از روی میزان Rf و همچنین نشانگر مورد استفاده توسط نرم‌افزار UVIDocMW انجام گرفت. وزن مولکولی پلی پپتیدها، بین ۲۱ تا ۷۰ کیلو دالتون رده بندی شدند. در حالت کلی نتایج نشان داد که تجمع پروتئین‌ها در رقم چمران بیشتر از رقم زاگرس و کوه‌دشت بود، همچنین با افزایش غلظت نانوکلات پتاسیم و اعمال تنش شدید (۳۵FC)، پلی پپتیدهای ۵۵، ۵۰، ۴۵، ۴۰، ۳۵، ۳۰، ۲۵ و ۲۱ کیلودالتونی در رقم چمران به ترتیب با نسبت‌های ۱/۳۲، ۴/۸، ۱/۴۷، ۱/۸۳، ۲/۹۷، ۱/۹۸، ۲/۴۱ و ۱/۵ نسبت به شاهد افزایش یافتند و همچنین در رقم چمران در غلظت ۶۵ppm نانوکلات پتاسیم و تنش شدید (۳۵FC) بالاترین تراکم پلی پپتید مشاهده شد (شکل ۷). همچنین، در رقم زاگرس در غلظت ۶۵ppm نانوکلات پتاسیم و تنش شدید (۳۵FC) بالاترین تراکم پلی پپتید مشاهده شد همچنین، با افزایش غلظت نانوکلات پتاسیم و اعمال تنش شدید (۳۵FC)، پلی پپتیدهای ۵۵، ۵۰، ۴۵، ۴۰، ۳۵، ۳۰، ۲۵ و ۲۱ کیلودالتونی در رقم زاگرس به ترتیب با نسبت‌های ۱/۲، ۸/۳، ۲/۸۴، ۲/۷۱، ۲/۸۵، ۱/۹۸، ۱/۴ و ۳/۶ نسبت به شاهد افزایش یافتند (شکل ۸). همچنین، پلی پپتیدهای ۵۵، ۵۰، ۴۵، ۴۰، ۳۵، ۳۰، ۲۵ و ۲۱ کیلودالتونی در رقم کوه‌دشت به ترتیب با نسبت‌های ۱/۲، ۱/۸، ۲/۸، ۱/۴۷، ۱/۵، ۱/۸۳، ۱/۳، ۲/۹ و ۱/۲۱ نسبت به شاهد افزایش یافتند (شکل ۹). این نتایج با مطالعات انجام شده توسط تاسگین و همکاران (Tasgin *et al.*, 2003) مطابقت داشت.



آنزیمی ترکیبات زنبیوتیک و آندوبیوتیک دخالت دارند (Moons, 2005). آنزیم‌های GSTs در متابولیسم‌های داخلی شامل تنش اکسیداتیو، اتصال فلاونوئیدها و تنظیم آپوپتوزیس دخالت دارند (Kilili *et al.*, 2004). علاوه بر فعالیت GSTs در تنش‌های متفاوت، در رشد و نمو سلولی نیز شرکت دارند (Moons, 2005) آسکوربات پراکسیدازها یک نوع خاص از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌باشند که توسط یک خانواده مولتی‌ژن که شامل ایزوآنزیم‌های فراوان می‌باشند، رمز می‌شوند. عملکرد آنها در مقاومت‌های غیرزیستی از طریق سم‌زدایی  $H_2O_2$  به  $H_2O$  و اکسیداسیون سوبستراهایی مانند آسکوربات گزارش شده است (Shigeoka *et al.*, 2002). پروتئین 2-cys-Prx (2-cys-peroxiredoxin) عضوی از خانواده‌ی آنزیم‌های سم‌زدای پراکسید می‌باشد و در نتیجه فعالیت اختصاصی گیاهی در محیط اکسیژنی کلروپلاست حاصل می‌شود. پروتئین‌های Prxs می‌توانند به‌عنوان یک پراکسیداز، حسگرهای ردوکس و چاپرون‌های مولکولی عمل کنند (Kim *et al.*, 2009). علاوه بر این، در انواع عملکردهای سلولی شامل آپوپتوزیس دخالت دارند (Zhou *et al.*, 2000). افزایش بیان Prx منجر به حذف  $H_2O_2$  و بنابراین حفاظت سلول‌ها در مقابل آپوپتوزیس می‌شود (Kim *et al.*, 2000). در مطالعه‌ی حاضر، گلوکاتیون S ترانسفراز (لکه‌های ۱۱ و ۶)، آسکوربات پراکسیداز (لکه‌ی ۵) و 2-cys-Prx (لکه‌ی ۱) به صورت معنی‌داری توسط تیمار با نانوکلات پتاسیم تنظیم می‌شوند. Probenazole - induced (PBZ) protein (لکه‌ی ۱۹) به‌عنوان پروتئین دخیل در مقابله با تنش معرفی شده است. احتمالاً لکه‌ی ۱۴ سوپراکسید دیسموتاز (SOD) می‌باشد. این

و مرگ سلولی دخالت دارند (Lovegrove and Hooley, 2000).

### نتایج آزمایش‌های الکتروفورز ۲ بعدی:

برای شناسایی تفاوت بیان پروتئین‌های مرتبط با تاثیر تیمار نانوکلات پتاسیم در مقایسه با نمونه‌ی شاهد، نقشه پروتئوم (2D-PAGE) برگ رقم زاگرس تیمار شده با ۶۵ ppm نانوکلات پتاسیم تحت تنش شدید (۳۵٪ ظرفیت زراعی) با نمونه‌ی شاهد مقایسه شدند. لکه‌های نقشه‌ی پروتئوم شناسایی شده با استفاده از نرم‌افزار TotalLab و spot Top بر پایه بارالکتریکی (نقطه ایزوالکتریکی یا pI) و اندازه (جرم مولکولی نسبی یا MW)، ارزیابی شدند (جدول ۲). مقایسه لکه‌های گیاهان تیمار شده با گیاهان شاهد (شکل ۱۰ تا ۱۱) نشان داد لکه‌های ۱۱، ۲۰، ۱۰، ۱۶، ۹، ۲ و ۱۴ به ترتیب با وزن مولکولی ۲۵/۹۳، ۳۹/۹۷، ۴۰/۰۴، ۵۳/۹۸، ۵۵/۳۲، ۲۱/۷۱ و ۳۲ متعلق به پروتئین‌هایی هستند که در گیاهان تیمار شده و شاهد به صورت مشترک وجود دارند و لکه‌های ۱۱، ۲ و ۱۴ در حالت تیمار شده نسبت به شاهد افزایش بیان نشان دادند و اما لکه‌های ۲۰، ۱۶ و ۹ در حالت تیمار شده نسبت به شاهد کاهش بیان نشان دادند (شکل ۱۲). لکه‌های ۶، ۵، ۱، ۱۵، ۱۲، ۱۳، ۴، ۱۸، ۱۷، ۳، ۷، ۸ و ۱۹ به ترتیب با وزن مولکولی ۲۵/۰۹، ۲۷/۹۶، ۲۸/۳۶، ۳۱/۹۶، ۳۷/۸۵، ۴۷/۶۸، ۵۲/۸۶، ۳۹/۴، ۰۴/۵۸، ۳۲/۴۲ و ۲۹/۳۸ جزو پروتئین‌هایی می‌باشند که در گیاهان شاهد دیده نشدند و احتمالاً مربوط به تیمار نانوکلات پتاسیم هستند (شکل ۱۱).

### سیستم دفاعی در مقابل تنش: گلوکاتیون

S ترانسفرازها (GSTs) گروهی از آنزیم‌های دایمری چند عملکردی می‌باشند که در سم‌زدایی

دهیدروژناز، لکه‌ی ۱۳ گلیسرآلدهید ۳ فسفات دهیدروژناز و لکه‌ی ۴ فروکتوز بیس فسفات می‌باشد که آنزیم‌های کلیدی چرخه گلیکولیز و چرخه تری کربوکسیلیک اسید می‌باشند. این امر نشانگر این موضوع می‌باشد که تیمار نانوکلات پتاسیم، سطح گلوکز، فروکتوز و ساکارز و فراوانی سایر آنزیم‌های مرتبط با تنش‌های زیستی و غیرزیستی را افزایش می‌دهد (Chen *et al.*, 1993). آنزیم ترئوزفسفات ایزومراز نوعی آنزیم است که واکنش برگشت‌پذیر تبدیل متقابل ایزومرهای تریوزفسفات یعنی دی هیدروکسی استون فسفات و D-گلیسرآلدهید-۳-فسفات را کاتالیز می‌کند. این آنزیم در فرآیند گلیکولیز نقش مهمی دارد.

#### متابولیسم پروتئین: لکه‌ی ۱۷ احتمالاً

گلوتامین سنتاز می‌باشد که انباشتگی آمونیوم با گلوتامات را برای تولید گلوتامین کاتالیز می‌کند و سپس گروه‌های نیتروژنی را برای بیوسنتز همه‌ی ترکیبات نیتروژنی در گیاهان مهیا می‌کند. این آنزیم، تثبیت آمونیوم روی گروه آلفا کربوکسیل گلوتامات را که وابسته به آندوزین تری فسفات است کاتالیز می‌کند تا گلوتامین را به وجود آورد. در واقع این آنزیم گروه‌های نیتروژنی را برای بیوسنتز همه اجزای نیتروژنی در گیاه فراهم می‌کند و اسید آمینه‌ی اصلی دخیل در سنتز پرولین است. پرولین یک جزء مهم پاسخ به تنش شوری در گیاهان به شمار می‌رود و در داخل سلول گیاه می‌تواند به عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی اسمزی و عامل حفاظتی اسمزی از گیاه در برابر تنش شوری حمایت کند (Ahmadi *et al.*, 2009). احتمالاً لکه‌ی ۳ گلوتامین دکربوکسیلاز می‌باشد دکربوکسیلاسیون گلوتامین را به -آمینو بوتیرات کاتالیز می‌کند. افزایش بیان گلوتامین

آنزیم جز پروتئین‌هایی می‌باشد که باعث کاهش گونه‌های اکسیژن فعال شده و توسط تنش‌های زیستی و غیر زیستی فعال می‌شود (Edwards *et al.*, 2000). به دلیل حفظ هموستازی در شرایط تنش، گیاهان نیاز دارند تا سازوکارهای مقاومت از قبیل حذف رادیکال‌های اکسیژن فعال و سیستم دفاع سلولی را تقویت کنند. گونه‌های اکسیژن فعال می‌توانند اجزای سلولی را تخریب کرده و به عنوان مولکول‌های پیام دهنده عمل کنند (Apel and Heribert, 2004). تنش‌های زیستی و غیرزیستی منجر به شکل‌گیری گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) می‌شود. تولید گونه‌های اکسیژن فعال سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، تخریب پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها می‌شود (Zhang *et al.*, 2009). گیاهان برای کاهش دادن اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال مکانیسم‌های متفاوتی دارند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی اکسیدانی اشاره کرد. این سیستم شامل سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی است. آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند (Agarwal and Pandey, 2004). احتمالاً اولین آنزیم پاک‌سازی‌کننده سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد که تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن که یک مولکول با خاصیت غیررادیکالی است را برعهده دارد. متابولیسم کربوهیدرات سنتز و انتقال قند و همچنین تقسیم‌بندی کربن را تنظیم می‌کند که در مواجه شدن با تنش‌های متفاوت دچار اختلال می‌شود (Kim *et al.*, 2000). احتمالاً لکه‌ی ۲۰ آنزیم‌های ایزوسیترات دهیدروژناز، لکه‌ی ۱۵، ترئوز فسفات ایزومراز، لکه‌ی ۱۲، ۶-فسفوگلیکونات

تشکیل ATP متصل بودن این دو واحد، به یکدیگر می‌باشد.

در بخش F1 یک کمپلکس محلول در آب است که از ۵ پلی پپتید تشکیل شده است (گاما، آلفا، بتا، دلتا، اپسیلون) که به‌طور طبیعی محکم به کمپلکس FO چسبیده است. زیر واحد گاما از یک طرف به F1 متصل شده و از یک طرف به طور محکم به زیر واحد C متصل شده است. بنابراین، وقتی که زیر واحد C می‌چرخد زیر واحد میله‌ای شکل گاما نیز می‌چرخد. زیر واحدهای آلفا و بتا به‌صورت هم‌گامی هستند که زیر واحد بتا مسئول تولید ATP می‌باشد. با توجه به نتایج، لکه‌ی ۱۰ ATP synthase subunit، احتمالاً لکه‌ی ۱۶ ATP sATP<sub>1</sub> می‌باشد که تیمار با نانوکلات پتاسیم فراوانی لکه‌های پروتئینی را افزایش می‌دهد. این موضوع نشانگر این است که تولید انرژی در تیمار با نانوکلات پتاسیم بیشتر از شاهد می‌باشد که باعث افزایش رشد و مقابله با انواع تنش‌های مختلف می‌شود.

**توکسین:** توکسین Prt ToxA یک توکسین پروتئینی می‌باشد که توسط گندم علیه پاتوزن *Pyrenophora tritici-repentis* تولید شده و مرگ سلولی را القاء می‌کند و منجر به تجمع گونه‌های فعال اکسیژنی در رقم‌های گندم حساس به توکسین می‌شود. ToxA binding protein 1 (توکسین مرتبط با ToxA) در القا مرگ سلولی نقش دارد (Manning et al., 2007).

احتمالاً لکه‌ی ۱۷ ToxA binding protein 1 باشد. این پروتئین ممکن است به‌عنوان یک تنظیم کننده‌ی انفجار اکسیداتیو تولید شده توسط نانوکلات پتاسیم تحت تاثیر شرایط تنش زیستی و غیرزیستی عمل کند.

سنتتاز یا دکربوکسیلاز در گیاهان منجر به مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌شود (Mclean et al., 2003).

#### تولید انرژی: گیاهان مقدار فراوانی ATP

برای رشد، نمو و مقابله با تنش نیاز دارند. پروتئین ATP-synthase یک پروتئین ۴۰۰ کیلو دالتونی می‌باشد که مقدار فراوانی انرژی برای فرایندهای زیستی مهیا می‌کند (Mclean et al., 2003). ATP سنتتاز از دو کمپلکس چند پروتئینی به نام FO و F1 تشکیل شده است. بخش Fo دارای سه نوع پروتئین سراسری می‌باشد که با a, b, c نشان داده می‌شود. در باکتری‌ها و میتوکندری‌های مخمر زیر واحد FO به صورت a1b2c10 می‌باشد، در حالی که در میتوکندری جانوری ۱۲ زیر واحد c و در کلروپلاست‌های مخمر ۱۴ زیر واحد c موجود است. زیر واحدهای a و b به‌طور محکم به یکدیگر متصل شده‌اند در حالی که به زیر واحد های c به‌طور محکم نچسبیده‌اند. در کل، ATP سنتتاز از ۲ بخش FO و F1 تشکیل شده که به‌وسیله ساقه‌ای که به آنتی‌بیوتیک (اولیگومایسین) حساس می‌باشد به هم متصل هستند. F1 قسمت سر این کمپلکس پروتئینی بوده و از ۵ زیر واحد و FO تنه و از ۳ زیر واحد تشکیل شده است. این کمپلکس در غشای داخلی میتوکندری، غشای تیلاکوئید کلروپلاست و غشای پلاسمایی باکتری‌ها وجود داشته و کار سنتز ATP را انجام می‌دهد. اگر ۲ بخش این کمپلکس ۴۰۰ کیلودالتونی به روش‌های مکانیکی از هم جدا شود قسمت F1 فقط هیدرولیز ATP را انجام می‌دهد. F1 در ماتریکس و FO در درون غشا قرار داشته و ۳ چرخش ۱۲۰ درجه‌ای در F1 نسبت به FO سبب تشکیل ATP می‌گردد. بنابراین، لازمه

گیاهان مشخص نیست. در مطالعه حاضر، SET-domain transcriptional regulator (لکه‌ی ۲) به صورت سریع توسط تیمار نانوکلات پتاسیم افزایش بیان می‌یابد. بنابراین ممکن است به عنوان یک عامل مهم در مسیر علامت‌دهی در مقابله با تنش‌های متفاوت عمل کند.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد با کاربرد نانوکلات پتاسیم و افزایش غلظت آن میزان فعالیت کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز افزایش یافت در حالی که موجب کاهش فعالیت پراکسیداز گردید. همچنین، نتایج پروتئومیکسی نشان داد که بیان برخی از پروتئین‌ها در اثر نانوکلات پتاسیم تغییر می‌یابد، این پروتئین‌ها در ارتباط مستقیم با سیستم دفاعی در مقابل تنش مانند لکه‌های ۱۱، ۶، ۵، ۱۴ و ۱۹ بودند. از جمله پروتئین‌های بیان شده پژوهش حاضر شامل برخی از آنزیم‌های سیستم دفاعی مانند آسکوربات پراکسیدازها، گلوکاتایون S ترانسفرازها و پروتئین‌های شوک حرارتی بود. همچنین، آنزیم‌های کلیدی چرخه گلیکولیز و چرخه تری کربوکسیلیک اسید شامل ایزوسیترات دهیدروژناز، ترئوزفسفات ایزومراز، فسفولیگونات دهیدروژناز، گلیسرآلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز، فروکتوز بیس فسفات بیان شدند. با توجه به این نتایج، به نظر می‌رسد کاربرد نانوکلات پتاسیم، سطح گلوکز، فروکتوز و ساکارز و فراوانی سایر آنزیم‌های مرتبط با تنش‌های زیستی و غیر زیستی را افزایش می‌دهد.

### انتقال علامت: دخالت پروتئین‌های مسئول

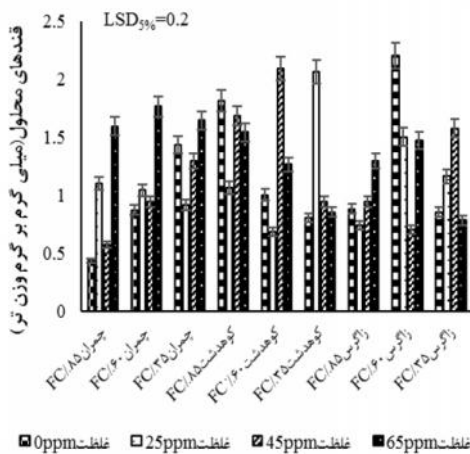
انتقال علامت اهمیت نانوکلات پتاسیم را در مقاومت‌های زیستی و غیرزیستی مشخص می‌کند (Chen *et al.*, 1993). به نظر می‌رسد لکه‌های ۸ و ۲ لکه‌های پروتئینی ۳-۳-۱۴ protein و SET-domain transcriptional regulator باشند که به ترتیب دخیل در انتقال علامت توسط تیمار نانوکلات پتاسیم افزایش می‌یابند. پروتئین‌های ۳-۱۴ خانواده ای از مولکول‌های موجود در سلول‌ها هستند که در مسیرهای شناسایی پروتئین‌کینازی در همه‌ی سلول‌های یوکاریوتیک همکاری می‌کنند. این پروتئین به عنوان نقشه‌های اتصال فسفوسرین / فسفوترئونین عمل کرده و در بر همکنش‌های وابسته به فسفریلاسیون میان پروتئین‌ها، مهار پیشرفت چرخه‌ی سلولی، آغاز شدن و ادامه یافتن چک پوینت‌های آسیب DNA و هماهنگ کردن سیگنال‌های درونی و حرکت اسکلت سلولی نقش دارند. پروتئین ۳-۳-۱۴ ممکن است با بیش از ۲۰۰ پروتئین هدف درگیر در سازمان‌دهی سلولی مانند GTPase و ATPase تعامل داشته باشد و مسیرهای آپوپتوزیس، علامت‌دهی، رشد سلولی و بقا را تنظیم کند و نقش مهم این آنزیم در تغییرات ساختار بافت، ترمیم و نیز بسیاری فرآیندهای بیماری‌زا می‌باشد (Wang *et al.*, 2008). SET domain proteins که در اجزای کروماتینی یافت می‌شوند نقش مهمی را در تنظیم رونویسی بیان ژن از طریق متیله کردن هیستون در حیوانات ایفا می‌کنند (Springer *et al.*, 2003) اما عملکرد آن در

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش کم آبی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در ارقام گندم تحت تیمار با - نانوکلات پتاسیم

**Table 1-** Analysis of variance for effect of water stress on antioxidant enzyme activity in wheat cultivar under nano-chelate potassium treatment

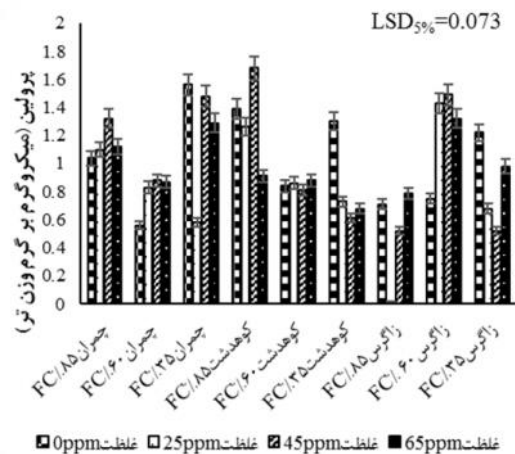
منابع تغییر	درجه آزادی df	میانگین مربعات					
		پرآکسیداز Peroxidase	قند محلول Soluble sugar	پروترین Proline	پروتئین Protein	پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase	کاتالاز Catalase
رقم variety	2	ns 1128	0.32 <sup>ns</sup>	0.08*	3796.8**	972001.3**	7543.1**
تنش stress	2	9676**	0.23 <sup>ns</sup>	0.15**	135.7 <sup>ns</sup>	ns 34762.6	2748.2**
غلظت concentration	3	762 <sup>ns</sup>	0.27 <sup>ns</sup>	0.064 <sup>ns</sup>	558.1**	142872.4**	3519.9**
رقم × تنش stress × Variety	4	8548**	0.74**	1.08**	1499.3**	383838.4**	4505.5**
رقم × غلظت concentration × Variety	6	6375**	0.62*	0.22**	447.3**	1145.6**	5181.9**
تنش × غلظت concentration × Stress	6	6528**	0.36 <sup>ns</sup>	0.52**	492.6**	126118.6**	11026.7**
رقم × تنش × غلظت variety × concentration × Stress	12	3618**	0.9**	0.12**	150.8 <sup>ns</sup>	38606.3 <sup>ns</sup>	909.2**
خطا Error	72	1263	0.19	0.024	137.4	35193.08	328.08

ns, \*, \*\* به ترتیب نشان دهنده اثر غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می باشد  
ns, \*, \*\*: non-significant and significant at 5 and 1%, respectively.



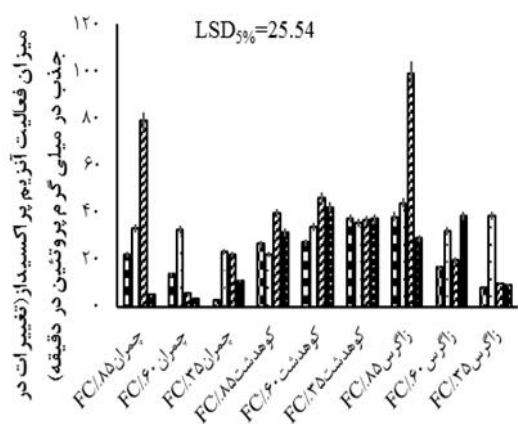
شکل ۲- اثر تنش کم آبی و تیمار نانوکلات پتاسیم بر میزان تولید قندهای محلول در ارقام گندم

**Figure 2-** Effect of water stress and nano-potassium chelate on soluble sugar content in wheat cultivar



شکل ۱- اثر تنش کم آبی و تیمار نانوکلات پتاسیم بر میزان سنتز پروترین در ارقام گندم

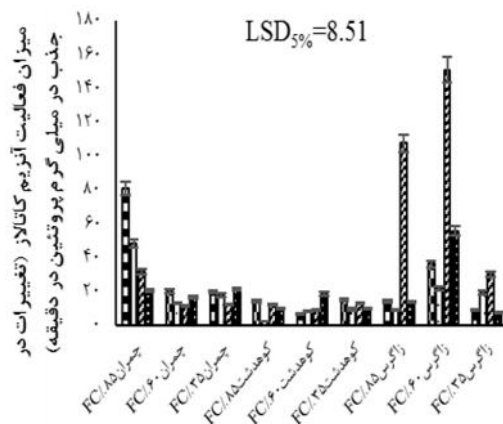
**Figure 1-** Effect of water stress and nano-potassium chelate on proline content in wheat cultivar



■ غلظت 0ppm ■ غلظت 25ppm ■ غلظت 45ppm ■ غلظت 65ppm

شکل ۴- تاثیر تنش کم آبی بر تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام گندم تحت غلظت نانوکلات پتاسیم

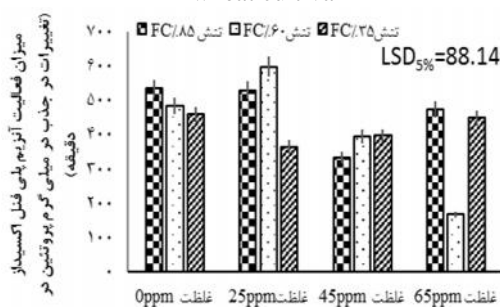
**Figure 4-** Effect of water stress and nano-potassium chelate on peroxidase activity in wheat cultivar



■ غلظت 0ppm ■ غلظت 25ppm ■ غلظت 45ppm ■ غلظت 65ppm

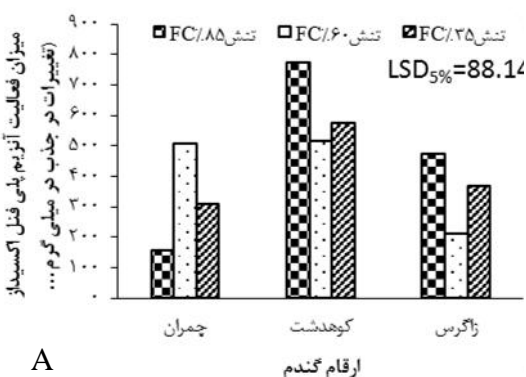
شکل ۳- تاثیر تنش کم آبی و نانوکلات پتاسیم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام گندم

**Figure 3-** Effect of water stress and nano-potassium chelate on catalase activity in wheat cultivar



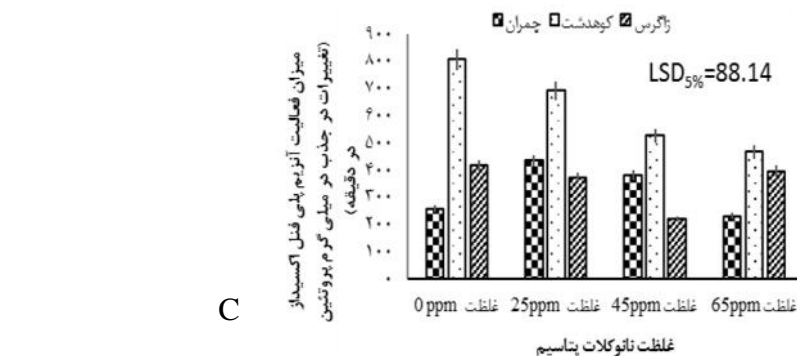
B

غلظت نانوکلات پتاسیم



A

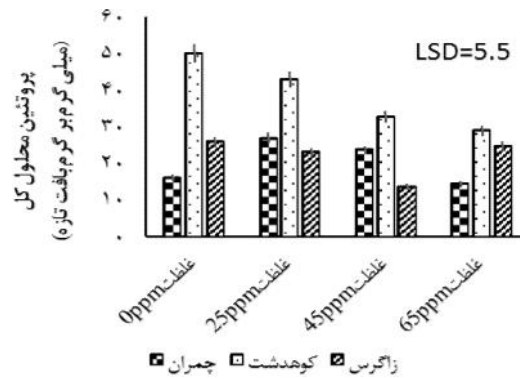
ارقام گندم



C

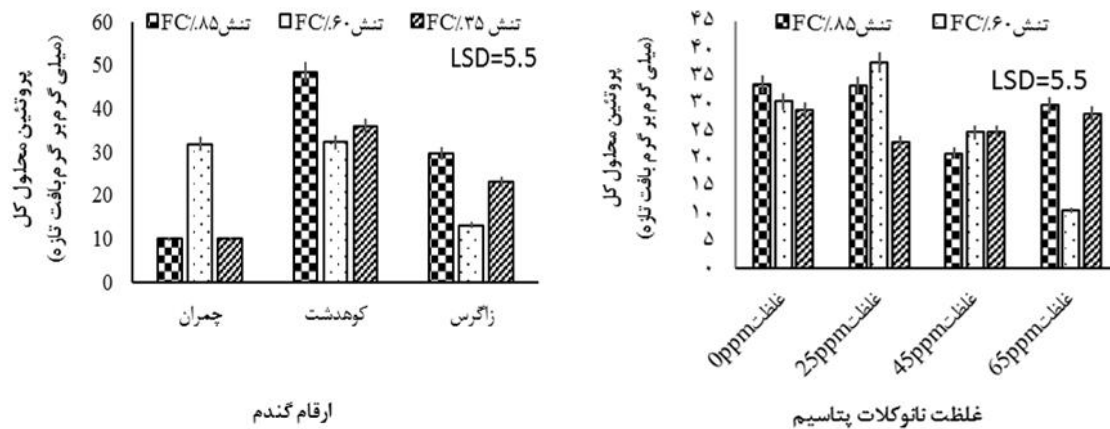
غلظت نانوکلات پتاسیم

شکل ۵- تاثیر رقم+تنش (A) غلظت + تنش (B) و غلظت + رقم (C) بر تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز  
**Figure 5-** Effect of cultivar× stress (A), concentration×stress (B) and concentration× cultivar on polyphenol oxidase activity



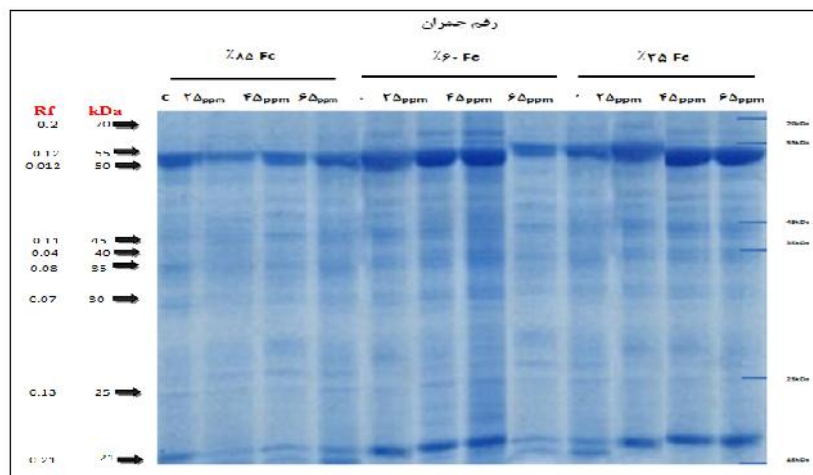
شکل ۶- تاثیر غلظت + رقم بر تغییرات پروتئین کل

Figure 6- Effect of concentration × cultivar on total protein



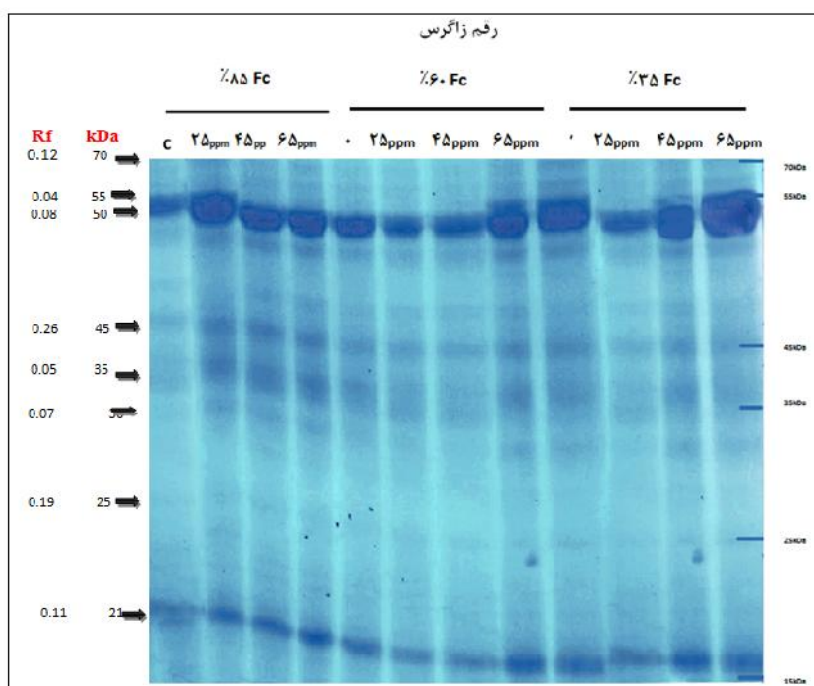
شکل ۷- تاثیر نانو کلات پتاسیم بر پروتئین کل محلول در برگ‌های گندم

Figure 7-Effect of nano- potassium chelate on of total proteins in wheat leaves



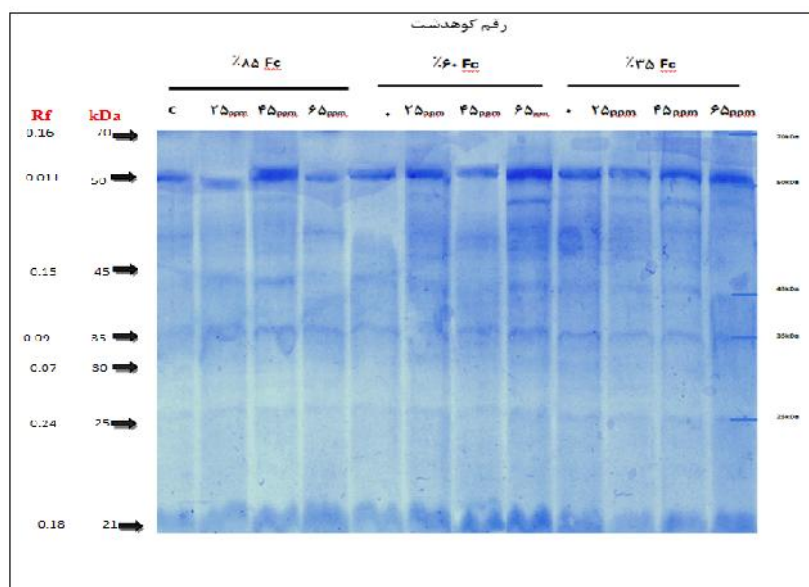
شکل ۸- تغییرات الگوی پروتئین کل محلول در برگ های گندم رقم زاگرس تحت تیمار های نانو کلات پتاسیم با غلظت های (۰، ۲۵، ۴۵ و ۶۵ ppm) و شاهد (c)

Figure 8- changes of total soluble proteins in leaves of wheat, Zagros cultivar treated by nano- potassium chelate (0, 25, 45 and 65 ppm) and control (C).



ادامه شکل ۸

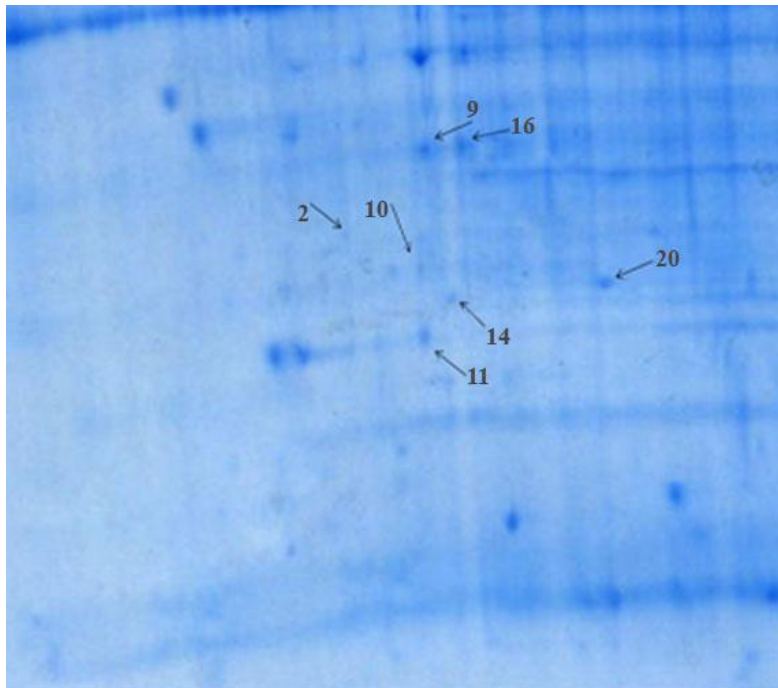
Figure 8- Continued



شکل ۹- تغییرات الگوی پروتئین کل محلول در برگ های گندم رقم کوهدشت تحت تیمار های نانوکلات پتاسیم با غلظت های (۰، ۲۵، ۴۵، ۶۵ppm) و شاهد (c)

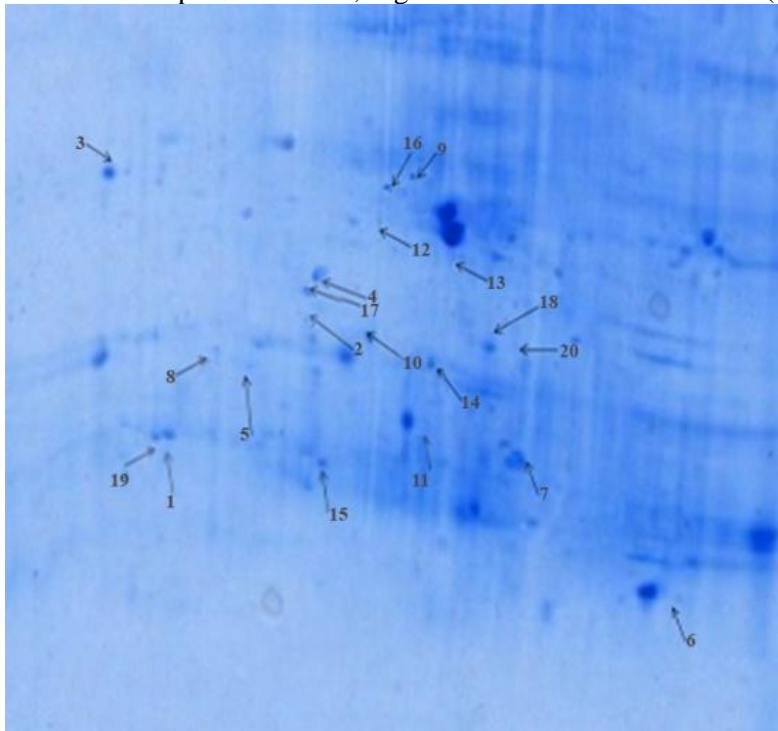
**Figure 9-** Changes of total soluble proteins pattern in wheat leaves, Kohdasht cultivar treated by nano- potassium chelate treatment (0, 25, 45 and 65 ppm) and control (C)





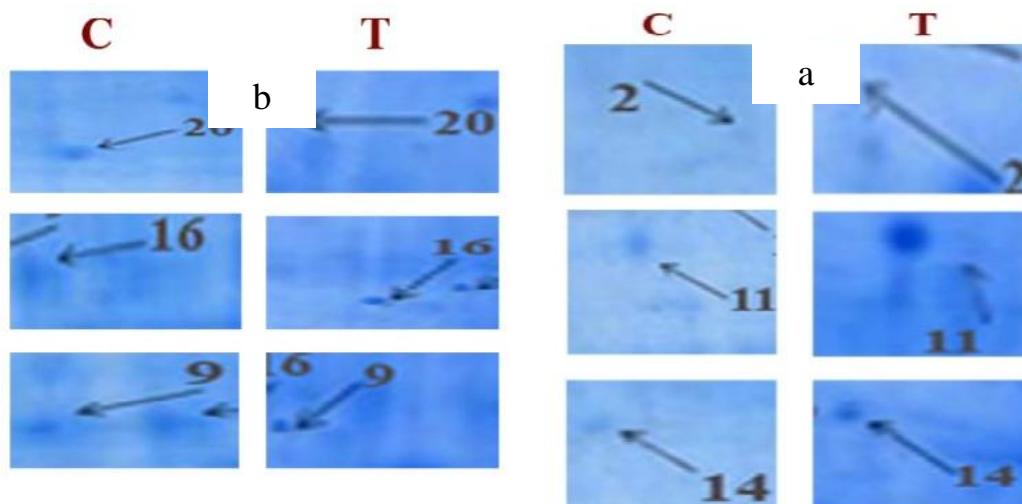
شکل ۱۰- نقشه پروتئوم بافت برگ گندم رقم زاگرس تحت تنش شدید (۳۵٪ ظرفیت زراعی). ژل دو بعدی مربوط به غلظت ۶۵ppm نانوکلات پتاسیم

**Figure 10-** Proteom map of wheat leaf, zagros cultivar under sever stress (35% FC).



شکل ۱۱- نقشه پروتئوم بافت برگ گندم شاهد

**Figure 11-** Proteom map of control wheat leaf



شکل ۱۲- موقعیت برخی از لکه‌های پروتئینی که در گندم رقم زاگرس در تیمار ۶۵ ppm

(a دارای بیان بالا نسبت به شاهد b دارای بیان کمتر نسبت به شاهد

**Figure 12-** Situation of some stains of protein in Zagros cultivar under 65 ppm treatment, A) overexpression ratio control, B) Low expression ratio control

جدول ۲- لکه‌های پروتئینی شناسایی شده از رقم‌های شاهد و تیمار شده با نانوکلات پتاسیم

**Table 2-** Stains of proteins recognized in control and nano-potassium chelate treated cultivars

Protein ID <sup>b</sup>	Mw kd <sup>c</sup>	pI <sup>d</sup>	predict ID <sup>e</sup>	Spot <sup>a</sup>
2- cys peroxiredoxin BSA1	28.36	5.98	gi 357163385	1
SET-domain transcriptional regulator	21.71	7.04	gi 4582456	2
Glutamine decarboxylase 1- like	56.32	5.30	gi 357117563	3
Fructose- 1,6 bisphosphate	37.85	5.38	gi 300681469	4
Ascorbate peroxidase	27.96	5.10	gi 15808779	5
Glutathione_ s transferase	25.9	6.35	gi 20067415	6
ToxA- binding protein 1Ptr	32.42	9.01	gi 38570261	7
14-3-3 protein	29.38	4.83	gi 40781605	8
ATP synthase cF1 alpha subunit	55.32	6.11	gi 14017569	9
ATP synthase subunit	40.04	18.8	gi 285014508	10
Glutathione_ s transferase 1	25.93	5.29	gi 232196	11
6 phosphoglucanate dehydrogenase, decarboxylating-like isoform 1	52.86	5.61	gi 357110692	12
Glyceraldehydes- 3 phosphate dehydrogenase B	47.68	6.03	gi 357114230	13
Probable superoxide dismutase	32	6.1	gi 7433347	14
Triosephosphate isomerase	31.96	6	gi 1174745	15
ATP <sub>1</sub>	53.98	6.01	gi 166165274	16
Glutamine synthetase isoform GS1c	39.4	5.41	gi 71361904	17
Putative PDI- like protein	40.58	6.17	gi 299469378	18
Probenazole_ induced protein (PBZ)	16.67	4.73	gi 7442204	19
Isocitrate dehydrogenase [NAD] catalytic subunit 5	39.97	6.33	gi 357148997	20

لکه‌های پروتئینی شماره گذاری شده روی ژل های دوبعدی گیاهان شاهد و تیمار شده با غلظت ۶۵ppm نانوکلات پتاسیم تحت تنش شدید (۳۵٪/ظرفیت زراعی) (b نام پروتئین شناسایی شده (c وزن مولکولی پروتئین پیش بینی شده (d نقطه ایزوالکتریک پروتئین پیش بینی شده (e شماره پروتئین در پایگاه های اطلاعات

a) spots protein numbered on two-dimensional gel in control plants and treated plants with nano-potassium chelat (65 ppm) under severe stress (35% FC) b) detected protein's name c) predicted molecular weight protein D) isoelectric point of the protein predicted E) Number protein databases

## References

## منابع مورد استفاده

- Agarwal, S., and V. Pandey. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Plant Biology*. 48: 555-560.
- Ahmadi, A., P. Ehsanzadeh, and F. Jabbari. 2009. Introduction of plant physiology. Vol 1. Translated of Hopkin-s. University of Tehran Press. 653P. (In Persian).
- Anderson, L. 2005. Candidate-based proteomics in the search for biomarkers of cardiovascular disease. *Journal of Physiology*. 15: 563: 23-60.
- Apel, K., and H. Heribert. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. 55: 373-399.
- Arzani, A. 2008. Breeding of crop plants, fifth edition. Translate, Esfahan: Publication Center of Industrial Esfahan University. (In Persian).
- Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*. 27: 84-93.
- Bates, L.S., R.P. Waldren, and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-208.
- Beranova-Giorgianni, S. 2003. Proteome analysis by two-dimensional gel electroph and mass spectrometry: strength and limitation. *Trends in Analytical Chemistry*. 22: 273-81.
- Bolen, D.W., and I.V. Baskakov. 2001. The osmophobic effect: Natural selection of a thermodynamic force in protein folding. *Journal of Molecular Biology*. 310(5): 955-963.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Biochemistry*. 72: 248-254.
- Chen, Q., L.M. Lauzon, A.E. DeRocher, and E. Vierling. 1993. Accumulation, stability, and localization of a major chloroplast heat-shock protein. *Journal of Cell Biology*. 110: 1873-1883.
- Damerval, C., D.de. Vienne, M. Zivy, and H. Thiellement. 1986. Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. *Electrophoresis*. 7: 52-54.
- Daneshian, J., Harvan Eslam, M. and Jonoubi, P. 2002. Study of quantitative and quality characteristics of soybean genotypes in deficit irrigation conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 11(3):393-409.
- Edwards, R., D.P. Dixon, and V. Walbot. 2000. Plant glutathione S-transferases: Enzymes with multiple functions in sickness and in health. *Trend Plant Science*. 5: 193-198.
- Gressel, J., and E. Galun. 1994. Genetic controls of photo- oxidant tolerance, pp. 237-274. In: Causes of photo-oxidative stress and amelioration of defense systems in plants. Foyer CH, Mullineaux PM, eds. CRC Press.

- Hajduch, M., R. Rakwal, GK. Agrawal, and M. Yonekura Pretova. 2001. High-resolution twodimensional electrophoresis separation of proteins from metal-stressed rice (*Oryza sativa* L.) leaves: Drastic reductions/ fragmentation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase and induction of stress-related proteins. *Electrophoresis*. 22: 2824–2831
- Hajiboland, R., and A. Joudmand. 2009. The K/Na replacement and function of antioxidant defense system. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B- Soil and Plant Science*. 59(3): 246-259.
- Hayat, S., and A. Ahmad. 2007. Salicylic acid: A plant hormone. Springer. 97-99.
- Hirsch, J., K.C. Hansen, A.L. Burlingame, and M.A. Matthay. 2004. Proteomics: current techniques and potential applications to lung disease. *American Journal of Physiology Lung Cell and Molecular Physiology*. 287: 1-23.
- Hong, Z., K. Lakkineni, Z. Zhang, D.P. Verma. 2000. Removal of feedback inhibition of delta (1)-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiology*. 122(4): 1129-1136.
- Irigoyen, J.J., D.W. Emerich, and M. Sanchez-Diaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Plant Physiology*. 84: 55-60.
- Kar, M., and D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase, and poly phenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*. 57: 315-319.
- KaviKishor, P.B., S. Sangam, R.N. Amrutha, P. Sri Laxmi, K.R. Naidu, and K. Rao. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*. 88(3): 424-438.
- Kilili, K.G., N. Atanassova, A. Vardanyan, N. Clatot, K. Al-Sabarna, P.N. Kanellopoulos, A.M. Makris, and S.C. Kampranis. 2004. Differential roles of tau class glutathione S-transferases in oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*. 279: 24540–24551.
- Kim, H., T.H. Lee, E.S. Park, J.M. Suh, S.J. Park, H.K. Chung, O.Y. Kwon, Y.K. Kim, H.K. Ro, and M. Shong. 2000. Role of peroxiredoxins in regulating intracellular hydrogen peroxide and hydrogen peroxide induced apoptosis in thyroid cells. *Journal of Biological Chemistry*. 275: 18266–18270.
- Kim, S.Y., H.H. Jang, and J.R. Lee. 2009. Oligomerization and chaperone activity of a plant 2 Cys peroxiredoxin in response to oxidative stress. *Plant Science*. 177: 227–232.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685.
- Lovegrove, A., and R. Hooley. 2000. Gibberellin and abscisic acid signalling in aleurone. *Science Ltd*. 5: 1360-1385.

- Magbanua, Z.V., C.M.D. Moraes, T.D. Brooks, W.P. Williams, and D.S. Luthe. 2007. Is catalase activity one of the factors associated with maize resistance to *Aspergillus flavus*? *Molecular Plant Microbe Interact.* 20(6): 697-706.
- Manning, V.A., L.K. Hardison, and L. Ciuffetti. 2007. Ptr ToxA interacts with a chloroplast- localized protein. *Molecular Plant Microbe Interactions.* 20: 168-177.
- Mauch, F., B. Mauch-Mani, C. Gaille, B. Kull, D. Haas, and C. Reimann. 2001. Manipulation of salicylate content in *Arabidopsis thaliana* by the expression of an engineered bacterial salicylate synthase. *Plant Journal.* 25: 67-77.
- Mc Lean, M.D., D.P. Yevtushenko, A. Deschene, O.R.V. Cauwenberghe, A. Makhmoudova, J.W. Potter, A.W. Bown, and B.J. Shelp. 2003. Overexpression of glutamate decarboxylase in transgenic tobacco plants confers resistance to the northern root- knot nematode. *Molecular Breeding.* 11: 277-285.
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science.* 7: 405-410.
- Mittler, R., S. Vanderauwera, M. Gollery, and F. Van Breusegem. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Science.* 9(10): 490-498.
- Moons, A. 2005. Regulatory and functional interactions of plant growth regulators and plant glutathione S-transferases (GSTs). *Vitamins and Hormones Series.* 72: 155-202.
- Ohtsuka, K., D. Kawashima, Y. Gu, and K. Saito. 2005. Inducers and co-inducers of molecular chaperones. *International Journal of Hyperthermia.* 21(8): 703-11.
- Shigeoka, S., T. Ishikawa, M. Tamoi, Y. Miyagawa, T. Takeda, Y. Yabuta, and K. Yoshimura. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany.* 53: 1305- 1319.
- Singh Gill, S., and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants: A Review. *Plant Physiology and Biochemistry.* 48: 909-930.
- Springer, N.M., C.A. Napoli, D.A. Selinger, R. Pandry, K.C. Cone, V.L. Chandler, and S. Kaeppler. 2003 Comparative analysis of SET domain proteins in maize and *Arabidopsis* reveals multiple duplications preceding the divergence monocots and dicots. *Plant Physiology.* 132: 907-925.
- Tasgın, E., O. Atici, and B. Nalbantoglu. 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regulation.* 41: 231-236.
- Tavakoli Hasanaklou1, H., A. Ebadi, and S. Jahanbakhsh. 2014. Study of some tolerance mechanisms to water deficit stress in bread wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Research.* 4(1): 13-25. (In Persian).
- Thipyapong, P., J. Melkonian, D.W. Wolfe, and J.C. Steffens. 2004. Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. *Plant Science.* 167: 693-703.

- Turkan, I., M. Bor, F. Ozdemir, and H. Koca. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*. 168: 223-231.
- Wang, C., Q.H. Ma, Z.B. Lin, P. He, and J.Y. Liu. 2008. Cloning and characterization of a cDNA encoding 14-3-3 protein with leaf and stem-specific expression from wheat DNA sequence. *Plant Cell*. 19: 130-136.
- Wittmann-Liebold, B., H.R. Graack, and T. Pohl. 2006. Two-dimensional gel electrophoresis as tool for proteomics studies in combination with protein identification by mass spectrometry. *Proteomics*. 6: 4688-4803.
- Zand, B., A. Soroushzaheh, F. Ghanati, and F. Moradi. 2009. Effect of Zn and IBA application on the some antioxidant enzymes activity in maize. *Journal of Iranian Plant Biology*. 2: 35-48.
- Zhang, H., Sh. Zhang, Q. Meng, J. Zou, W. Jiang, and D. Liu. 2009. Effects of aluminum on nucleoli in root tip cells, root growth and the antioxidant defense system in *Vicia faba* L. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 51: 99-106.
- Zhou, Y., K.H. Kok, A.C. Chun, C.M. Wong, H. Wu, M.C. Lin, P.C. Fung, H. Kung, and D.Y. Jin. 2000. Mouse peroxiredoxin V is a thioredoxin peroxidase that inhibits p53-induced apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 268: 921-927.
- Zhu, J.K. 2000. Genetic analysis of plant salt tolerance using Arabidopsis. *Plant Physiology*. 124: 941-948.

## Protein Profile in Wheat as Affected by Drought Stress and Nano-Chelate Potassium

Nafiseh Asghari<sup>1</sup>, Sodابه Jahanbakhsh Godehkahriz<sup>2\*</sup>, Ali Ebadi<sup>3</sup>, and Nasibeh Tavakoli<sup>4</sup>

Received: October 2016, Revised: 22 January 2017, Accepted: 26 January 2017

### Abstract

Tolerant systems in plants including wheat are affected by several chemical factors, like nano-chelate potassium. Use of nano-chelated potassium under drought stress reduces its negative effects and increase yield. To study protein profiles of wheat under drought stress, a factorial experiment based on completely randomized design with three replications was performed. The first factor was three levels of irrigation (85%, 60% and 35% field capacity), the second factor consisted of three wheat cultivars (Zagros, Chamran and Kuhdasht) and the third factor consisted of four nano-chelated potassium concentrations (zero, 25, 45, 65 ppm). The results showed that concentrations of proline and carbohydrates which play a major role in plant defense mechanisms due to nano-chelated potassium treatment were increased. Catalase and but polyphenol oxidase activity decreased with increasing concentrations of nano-chelate potassium, while peroxidase activity increased. The results of two dimensional electrophoretic studies showed changes of protein expression, due to the effect of nano-chelated potassium as a direct contact with the defensive system against drought stresses, such as 11, 6, 5, 19, 14 bands. Nano-chelated potassium is also associated with proteins involved in the metabolism of carbohydrates and protein and final energy production.

**Key words:** Amino Acid, Drought stress, Nano-chelated potassium, Proteomics, Wheat.

1- M.Sc. Graduated of Agricultural Biotechnology. Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

2- Assoc. Prof., Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

3- Prof. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

4- Ph.D. Student of Crop Physiology. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

\* *Corresponding Author:* [jahanbakhsh@uma.ac.ir](mailto:jahanbakhsh@uma.ac.ir)

