پاسخ‌های فیزیولوژیک و تغییرات پروتئین حرارتی در سرخارگل تحت تنش خشکی

فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی
جلد ۱۴، شماره ۴، صفحات ۳۲-۲۵
(زمستان ۱۳۹۷)

کوثر مرادی، فریبا خلیلی ✉
گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد خوراسگان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران faribakhalili644@yahoo.com ✉ **(مسؤول مکاتبات)**

چکیده سلول‌های گیاهی جهت درک سیگنال‌های مختلف پیرامون‌شان نمو یافته‌اند و از طریق تعدیل بیان ژن‌ها به آن‌ها پاسخ می‌دهند. خشکی یک ویژگی آب و هوایی طبیعی و محدودکننده عملکرد گیاهان زراعی است. در این پژوهش به منظور ارزیابی واکنش گیاه سرخارگل به تنش خشکی، در یک آزمایش گلدانی، پس از اعمال سطح تنش خشکی شامل آبیاری به میزان ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۸۵٪ ظرفیت زراعی همراه با آبیاری معمول، میزان پرولین، پتاسیم، فسفر و نیتروژن برگ اندازه‌گیری و نیز بیان پروتئین‌های شوک حرارتی با استفاده از روش Real- Time PCR در بافت برگ مورد ارزیابی قرار گرفت. افزایش معنی‌دار میزان پرولین، کاهش پتاسیم، فسفر و نیتروژن در بافت برگ در اثر اعمال تنش خشکی مشاهده شد. همچنین اعمال تنش خشکی موجب افزایش بیان پروتئین شوک حرارتی در تمامی سطوح تنش مورد مطالعه شد. به طور کلی، گیاه سرخارگل با به کارگیری برخی سازوکارهای دفاعی از قبیل افزایش محتوی پرولین و پروتئین شوک حرارتی در مقابل تنش خشکی مقاومت می‌کند.

شناسه مقاله
نوع مقاله: پژوهشی
تاریخ پژوهش: ۱۳۹۶
تاریخ دریافت: ۹۷/۰۵/۱۲
تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۸

واژه‌های کلیدی
- **پروتئین شوک حرارتی**
- **پرولین**
- **تنش آبی**
- **تنش خشکی**
- **تنش غیرزیستی**

این مقاله با دسترسی آزاد تحت شرایط و قوانین The Creative Commons of BY - NC - ND انتشار یافته است.

DOI: 10.22034/AEJ.2018.545685

مقدمه سرخارگل[1] از تیره آفتابگردان گیاهی علفی، چندساله و دگرگشن است که ارتفاع آن حداکثر به ۱ تا ۱/۵ متر هم می‌رسد. تمام اندام‌های این گیاه حاوی مواد ارزشمندی نظیر ترکیبات آکلیل‌آمید[2]، ایزوبوتیل‌آمید[3]، متیل‌بوتیل‌آمید[4] و اسید شیکوریک[5] است. از این رو، از این گیاه به عنوان داروی پیشگیری‌کننده و معالجه‌کننده سرماخوردگی استفاده می‌شود. مواد مؤثره سرخارگل سبب تقویت سیستم دفاعی بدن و افزایش تولید ایمونوگلوبولین[6] می‌شود.[۳]

خشکی یک ویژگی آب و هوایی طبیعی و تکراری در اکثر بخش‌های دنیا است و نقش مهم و محدودکننده‌ای را در عملکرد گیاهان زراعی بازی می‌کند. با این حال، گیاهان دارای سازوکارهای دفاعی برای غلبه بر شرایط آب‌وهوایی نامناسب هستند.[۱۱]

پرولین[7] در درون سلول‌های گیاهی، به عنوان ماده حفظ تعادل اسمزی بین سیتوپلاسم و واکوئل عمل می‌کند. به علاوه، پرولین به عنوان مخزن کربن و نیتروژن عمل نموده و حفاظت گیاه را در برابر صدمات رادیکال‌های آزاد انجام می‌دهد.[۱۱] کاهش مصرف پرولین برای سنتز پروتئین در طی تنش ممکن است، دلیل احتمالی تجمع پرولین باشد. دسترسی به نیتروژن در شرایط خشکی برای گیاهان زراعی از عوامل مهم محدودکنندهٔ تولیدات کشاورزی است. کمبود نیتروژن به علت کاهش اندازه و دوام سطح برگ، باعث کاهش میزان نور دریافتی، کارآیی استفاده از نور و فتوسنتز گیاه زراعی می‌شود.[۱۰] افزایش رشد ریشه و کاهش همزمان سطح برگ‌ها به‌عنوان سطح تعرق در شرایط خشکی در گیاهان دیده می‌شود و هر دو با واسطه آبسیزیک اسید عملی می‌گردد. در عین حال، افزایش انباشتگی قندها که در کمبود فسفر رایج است،[۸] می‌تواند به دلیل نقش آنها به عنوان مواد ایجاد کننده فشار اسمزی در مقابله با خشکی مؤثر باشد. بررسی‌ها نشان داده که پتاسیم با کاهش اتلاف آب از گیاه به صورت تبخیر و تعرق باعث مقاومت به خشکی شده و موجبات افزایش عملکرد را در شرایط تنش رطوبتی فراهم می آورد. بنابراین گیاهان مبتلا به کمبود این عنصر به خشکی بسیار حساسند.[۲]

بیان پروتئین شوک حرارتی[8] با افزایش سریع دما، تحریک می شود. این پروتئین-ها، در مقاومت به تنش‌ها بسیار اهمیت دارند و سبب ایجاد سازگاری به محیط می‌گردند. دانستن نقش پروتئین‌های شوک حرارتی در ارتباط با مقاومت به تنش از چندین منظر به عنوان یک شاخص بالقوه در تنش‌ها مهم می‌باشد.[۱۶] هدف از تولید این پروتئین‌ها ایفای نقش در تاخوردگی، سرهم‌بندی، مکان‌یابی و تخریب پروتئین‌ها در فرایندهای طبیعی سلول، تحت شرایط تنش نیز در حمایت از گیاهان سبب حفظ هومئوستازی[9] سلولی می‌شوند. همچنین، پروتئین‌های شوک حرارتی با سایر سازوکارهای پاسخ به تنش مثل اسمولیت‌ها[10] نیز اثر متقابل دارند.[۱،۱۴]

با افزایش بیان پروتئین شوک حرارتی در برنج گیاهان تراریخته مقاوم به خشکی تولید نمودند، اگر چه تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای در پتانسیل آب جوانه‌های لاین‌های تراریخته و گیاهان شاهد در انتهای دوره خشکی یافت نشد، اما تنها جوانه‌های تراریخته با بیان بالای سطح این پروتئین، توانستند پس از آبیاری مجدد

[1] *Echinacea purpurea L.*
[2] acyl amide
[3] isobutylamide
[4] methyl butylamide
[5] chicory acid
[6] immunoglobulin
[7] proline
[8] HSP
[9] homeostasis
[10] osmolites

دوباره رشد خود را از سر بگیرند.[۹] افزایش بیان پروتئین‌های شوک حرارتی در پاسخ به تنش شوری در برگ جو گزارش شده و چنین بیان شده که افزایش در مقدار پروتئین شوک حرارتی ممکن است در تعمیر یا کمک به پروتئین‌های دناتوره شده تحت تنش یا ایجاد مجدد کنفورماسیون[۱] طبیعی پروتئین‌های سیتوسلی نقش داشته باشد.[۱۲]

بررسی داده‌های بیان ژن‌های پروتئین شوک حرارتی در اسفناج و آرابیدوپسیس[۲] نشان داد که اعضای پروتئین شوک حرارتی در پاسخ به تنش‌هایی مثل گرما، سرما و خشکی، تنش‌های شیمیایی یا سایر تنش‌ها بیان می‌شوند و بیان مجدد آنها با ایجاد تحمل گرمایی در گیاه ارتباط مستقیم دارد.[۱۸] ایفای نقش در پاسخ دفاعی به تنش‌ها به وسیله پروتئین شوک حرارتی توسط *دوان و همکاران (۲۰۱۱)* به اثبات رسیده است.[۵]

با توجه به اهمیت سرخارگل در تولید داروهای گیاهی و نیز تنش‌های غیر زیستی به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر عملکرد سرخارگل و تولید و افزایش متابولیت‌های ثانویه[۱] تا به حال گزارشی در خصوص پروتئین شوک حرارتی درگیر در پاسخ به تنش غیرزیستی خشکی در این گیاه ارایه نشده است، بنابراین این پژوهش با هدف پی بردن به پاسخ‌های گیاه به تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها این آزمایش در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان انجام شد. بذور سرخارگل پس از اعمال سرمادهی به مدت ۲ هفته در دمای ۴ درجه سلسیوس، به مدت ۱ ماه در محیط ام اس[۳] کشت شدند. گیاهچه‌های کامل در تیرماه سال ۱۳۹۶ به گلدان‌های ۴ لیتری محتوی خاک باغچه، تحت شرایط رطوبت نسبی ۷۵٪ و دمای ۲۵–۲۳ درجه سلسیوس در گلخانه منتقل شدند. در این آزمایش تیمارهای تنش خشکی در چهار سطح شامل آبیاری به میزان ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۸۵٪ ظرفیت زراعی اعمال و گلدان‌های شاهد در شرایط یکسان ۲ روز یک بار آبیاری گردیدند.

سه ماه بعد، برای ارزیابی میزان پرولین، سدیم، نیتروژن و پتاسیم از بافت برگ گیاهان تیمارهای مختلف نمونه‌برداری صورت گرفت. بافت برگی بلافاصله با نیتروژن مایع فریز شده و به فریزر ۸۰– درجه سلسیوس منتقل گردید. اندازه‌گیری میزان پرولین آزاد با استفاده از *روش بتز و همکاران (۱۹۷۳)* و نیز اندازه‌گیری میزان نیتروژن، فسفر و پتاسیم با استفاده از روش *هالد (۱۹۴۷)* صورت گرفت.[۴،۷]

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. هر تکرار شامل سه گلدان بود. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS ver. 9.2 صورت گرفته و مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

بررسی الگوی بیان ژن پروتئین‌های شوک حرارتی به عنوان مقیاس مولکولی برای اطمینان از تنش وارد شده به سرخارگل انجام شد. پس از به دست آوردن توالی mRNA این ژن از سایت NCBI[۴]، طراحی طراحی آغازگر ژن با استفاده از نرم‌افزار آنلاین IDTDNA[۵] انجام گرفت. توالی آغازگر رفت[۶] پروتئین شوک حرارتی شامل شامل GTGGAGAGGGTGGTGATGAA و نیز توالی آغازگر برگشت[۷] شامل GGTTGGGATGACGGTGTTTC بود. پس از طراحی و ساخت آغازگرها توسط شرکت پیشگام، ایران، سنتز cDNA به روش معمول با استفاده از

[1] conformation
[2] Arabidopsis
[3] Murashige and Skoog (MS)

[4] National Center for Biotechnology Information (NCBI)
[5] Integrated DNA Technologies
[6] forward
[7] reverse

الیگونوکلئوتیدهای پلیA و کیت شرکت یکتا تجهیز ساخته شد. اجزای واکنش سنتز cDNA شامل سنتز آغازگر الیگونوکلئوتیدی (۱۰ میکرومولار) ۱ میکرولیتر، آب عاری از نوکلئاز ۱۲/۵ میکرولیتر و RNA ۵ میکرولیتر بود. پس از تهیه محلول واکنش درون ویال‌ها، به منظور حذف ساختارهای ثانویه میکروتیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس میکروتیوب-های حرارت دیده سریعاً به ظرف حاوی یخ به مدت ۲ دقیقه منتقل گردیدند. در ادامه مخلوط PrimeScript Buffer (5x) ۴ میکرولیتر، Ribolock RNase inhibitor (40/µL) ۰/۵ میکرولیتر، dNTP mix (۱۰ میلی‌مولار) ۲ میکرولیتر و RevertAid µ-Mol ۱ میکرولیتر آماده و به هر میکروتیوب اضافه گردید. در نهایت، میکروتیوب‌ها در دستگاه PCR[1] قرار داده شدند و برنامه PCR ۴۲ درجه ، ۶۰ دقیقه و ۷۰ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. محصولات حاصل از RT-PCR[2] با استفاده از یک آغازگر رفت اختصاصی و آغازگر برگشت برای هر ژن هدف و مخلوط یکتا تجهیز تکثیر شدند. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد. محصولات حاصل از تکثیر با استفاده از روش Real-Time PCR و معرف SYBR Green 1 آشکارسازی شدند. در این پژوهش از ژن رفرنس یا ژن کنترل‌گر داخلی 18SrRNA برای نرمال‌سازی نتایج حاصل از این مرحله به دلیل بیان نسبی یکسان در شرایط شاهد و تنش استفاده شد. بررسی کمی نتایج حاصل از روش Real-time PCR با استفاده از نرم‌افزار Gene Expression Relative Quantitation ساخت شرکت بایورد[3] در مقایسه با نمونه شاهد، در شرایط تنش نسبت به شاهد نشان داد. آنالیز از روش 2-ΔΔCt صورت گرفت.[۱۷] نمودارهای خروجی دستگاه با استفاده از نرم‌افزار خود دستگاه با روش مقایسه کمی[4] تجزه تحلیل شد. محاسبه ΔΔCt با فرمول زیر انجام گرفت:

$$\text{Fold change} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

$$\Delta\Delta CT = (CTTarget\text{-}CTHouse\ keeping\ gene)\ Time\ x - (CTTarget\text{-}CTHouse\ keeping\ gene)\ Time\ 0$$

در این فرمول time x زمان تنش و time 0 زمان شاهد است. CTTarget بیان ژن مد نظر و CTHouse keeping gene بیان ژن کنترل‌گر داخلی است.

برای تعیین ارتباط بین صفات با ضریب همبستگی پیرسون، از نرم‌افزار SPSS ver. 20 استفاده شد.

نتایج و بحث

میزان پرولین، پتاسیم، فسفر و ازت برگ سرخارگل بین سطوح مختلف تنش خشکی تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری با هم داشت (جدول ۱).

با افزایش شدت تنش، افزایش غلظت پرولین در بافت برگی مشاهده شد. بیشترین مقدار پرولین در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۲).

این یافته‌ها با نتایج مطالعات قبلی در تنش خشکی در گندم، نخود و کلزا مطابقت داشت.[۱۲] همبستگی منفی و معنی‌داری بین نیتروژن، فسفر و پتاسیم با غلظت پرولین در بافت برگ مشاهده گردید (جدول ۳).

درصد پتاسیم برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر هر چهار سطح خشکی قرار گرفت؛ به گونه‌ای که قرار گرفتن گیاهان مورد بررسی در معرض تنش خشکی در مقایسه با شاهد منجر به کاهش معنی‌داری آن شد. نمونه‌های تحت این تنش در دو سطح ۲۵ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی کمترین میزان پتاسیم را نشان دادند (جدول ۲). کاهش یون پتاسیم به علت پایین آمدن رطوبت خاک در مطالعات سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است.[۶] پژوهشگران علت کاهش

[1] PCR Machine (Biorad, USA)
[2] Reverse transcription polymerase chain reaction
[3] Biorad
[4] Quantitative method

جدول ۱) تجزیه واریانس میزان پرولین، پتاسیم، فسفر و نیتروژن در بافت برگ در چهار سطح تنش خشکی و شاهد

Table 1) Variance Analysis of proline, potassium, phosphorus and nitrogen content of leaf tissue in four levels of drought stress and control

Source of variations	df	mean of squares			
		phosphorus	potassium	proline	nitrogen
Drought stress levels	4	0.83**	0.03**	0.03**	0.16**
Error	10	0.005	0.0006	0.0002	0.0003
CV (%)	-	7.69	1.64	4.47	1.85

**: معنی‌دار سطح احتمال ۱٪ **: significant at 1% level of probability

جدول ۲) محتوای پرولین، پتاسیم، فسفر، نیتروژن و پروتئین شوک حرارتی در برگ سرخارگل در چهار سطح تنش خشکی و شاهد

Table 2) Changes in proline, potassium, phosphorus, nitrogen, and thermal shock protein in leaf drooping leaves in four levels of drought stress

Severity of drought stress	proline (µM/dry weight)	potassium (mg/kg)	phosphorus (mg/kg)	nitrogen (mg/kg)
85% FC	0.27 c	1.53 b	1.33 b	1.13 b
75% FC	0.37 b	1.51 b	0.90 c	0.90 c
50% FC	0.37 b	1.46 c	0.60 d	0.80 d
25% FC	0.43 a	1.43 c	0.30 e	0.77 d
Normal irrigation	0.14 d	1.70 a	1.60 a	1.33 a

در هر ستون اعداد دارای حرف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

All numbers followed by similar letter are significant in 5% probability level

پتاسیم در پی تنش خشکی را در ارتباط با کاهش آب خاک می‌دانند که منجر به کاهش جریان عناصر از خاک به گیاه می‌شود.[۱۹]

در این آزمایش غلظت فسفر نسبت به شاهد در هر چهار سطح تنش کاهش معنی‌داری یافت. بیشترین میزان تجمع فسفر در تیمار شاهد و کمترین میزان آن در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی بوده است. بنابراین با افزایش سطح تنش، میزان تجمع فسفر در اندام هوایی کاهش یافت (جدول ۲). میزان فسفر برگ در سطح خشکی ۲۵٪ ظرفیت زراعی کمترین و بیشترین میزان آن در تیمار شاهد بوده است. بنابراین با افزایش سطح تنش، میزان فسفر برگ در اندام هوایی کاهش یافت (شکل ۲) که با نتایج *پیرزاد و همکاران (۲۰۱۵)* در بابونه آلمانی همخوانی

جدول ۳) ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی در سرخارگل با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون

Table 3) Correlation coefficients of the studied traits in Ferns by using Pearson Correlation Coefficient

Characteristics	Phosphorus	Potassium	Proline
Potassium			-0.92**
Phosphorus		0.87**	-0.91**
Nitrogen	0.95**	0.91**	-0.96**

** معنی دار در سطح ۱٪ **: significance at 1% probability level

داشت.[۱۴]

تنش خشکی به طور معنی‌داری میزان نیتروژن برگ را در مقایسه با نمونه های شاهد کاهش داد، کمترین محتوی نیتروژن برگ در نمونه‌های قرار گرفته در معرض شدیدترین سطح تنش ۲۵ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۲). تنش خشکی تأثیر معنی‌داری در سطح ۱٪ بر کاهش ازت برگ داشته است. به غیر از سطوح ۲۵ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی، بقیه سطوح خشکی اختلاف معنی‌داری با هم داشتند و نسبت به شاهد افت بسیار شدیدی را در مقدار درصد ازت برگ در تیمار ۲۵ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۲). بین پرولین با صفات

جدول ۴) تغییرات بیان پروتئین شوک حرارتی در تنش‌های مختلف آبی وارد شده به سرخارگل در مقایسه با شاهد

Table 4) Changes in HSP expression in drought stress conditions and t-test at two levels of p-value <0.05 and p-value <0.01 for comparison with control treatment

Severity of drought stress	25% FC	50% FC	75% FC	85% FC
HSP	↑5.76**	↑9.42**	↑7.12**	↑8.97**

** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین صفات در شرایط تنش کنترل در سطح احتمال ۱٪ و علامت ↑ و ↓ نشان دهنده افزایش و کاهش بیان ژن است.

** indicates the significant differences between the traits in with control at the probability level of 1%. The ↑ and ↓ mark represent an increase and decrease in gene expression.

درصد پتاسیم، فسفر و نیتروژن همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ مشاهده شد. همچنین، همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات درصد پتاسیم، فسفر و نیتروژن مشاهده شد (جدول ۳).

اعمال تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار بیان پروتئین شوک حرارتی در کلیه تیمارهای مورد مطالعه شد؛ که این امر نیز اثبات تغییرات ایجاد شده در نتیجه اعمال تنش را می‌نماید. لازم به ذکر است که بیشترین بیان پروتئین شوک حرارتی در تیمار ۵ ۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۴).

نتایج حاصل از تغییرات بیان ژن پروتئین شوک حرارتی نشان داد که اعمال تنش مذکور موجب افزایش معنی‌دار بیان پروتئین شوک حرارتی در کلیه تیمارهای مورد مطالعه شده است؛ که این امر نیز اثبات تغییرات ایجاد شده در نتیجه اعمال تنش را می‌نماید. *کوتاک و همکاران (۲۰۰۷)* افزایش بیان پروتئین‌های شوک حرارتی کوچک را در پاسخ به تنش شوری در برگ‌های جو گزارش نمودند.[۹] چنین بیان شده است که افزایش در مقدار پروتئین شوک حرارتی ممکن است در تعمیر یا کمک به پروتئین‌های دناتوره شده تحت تنش یا ایجاد مجدد کنفورماسیون طبیعی پروتئین‌های سیتوسلی نقش داشته باشد.[۱۱] *ساتو و یوکویا (۲۰۰۸)* با افزایش بیان این پرونئین‌ها در برنج گیاهان تراریخته مقاوم به خشکی تولید نمودند.[۱۵] تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول به عنوان شاخص فیزیولوژیک تحمل به خشکی می‌تواند توسط به نژادگران برای گزینش رقم‌های متحمل به خشکی در گیاه داروئی سرخارگل مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری کلی اعمال تنش خشکی در سرخارگل واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه را در پی داشت. اثر اعمال تنش خشکی، افزایش معنی‌دار میزان پرولین، کاهش پتاسیم، فسفر و ازت در بافت برگ را نشان داد. همچنین اعمال تنش خشکی موجب افزایش بیان پروتئین شوک حرارتی در تمامی سطوح تنش مورد مطالعه مشاهده شد. به طور کلی، گیاه سرخارگل با به کارگیری برخی سازوکارهای دفاعی از قبیل افزایش محتوی پرولین و پروتئین شوک حرارتی در مقابل تنش خشکی مقاومت می‌کند.

References

1. Amiri MB, Rezvani Moghddam P, Ahyaie HR, Falahi HR, Aghahvani Shajari M (2012) Effect of osmotic stress and salinity on germination and seedling growth indices of *Echinacea purpurea* and Cynara. Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences 2: 165-176.

2. Anrist Rangel Y (2008) Quantifying mineral source of potassium in agricultural soils. PhD Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Acta Universitatis Agriculturae Sueciae 53: 105.
3. Barnes J, Anderson LA, Gibbons S, Phillipson JD (2005) Echinacea species (*Echinacea angustifolia* (DC.) Hell, *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt, *Echinacea purpurea* (L.) Moench): a review of their chemistry, pharmacology and clinical properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology 57(8): 929-954.
4. Bates LS, Waldern RP, Tear ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
5. Duan YH, Guo J, Ding K, Wang SJ, Zhang H, Dai XW (2011) Characterization of a wheat HSP70 gene and its expression in response to stripe rust infection and abiotic stresses. Molecular Biology Reports 38: 301–307.
6. Ge TD, Sun NB, Bai LP, Tong CL, Sui FG (2012) Effects of drought stress on phosphorus and potassium uptake dynamics in summer maize (*Zea mays*) throughout the growth cycle. Acta Physiologiae Plantarum 34(6): 2179-2186.
7. Hald PM (1947) The flame photometer for the measurement of sodium and potassium in biological materials. The Journal of Biological Chemistry 167: 499-510.
8. Hawkesford M, Horst W, Kichey T, Lambers H, Schjoerring J, Skrumsager Moller I, White P (2012) Functions Of Macronutrients. In: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (ed. Marschner, P.). Academic Press: London 135–189.
9. Kotak S, Larkindale J, Lee U, von Koskull-Döring P, Vierling E, Scharf KD (2007) Complexity of the heat stress response in plants. Current Opinion in Plant Biology 10(3):310-316.
10. Lack Sh, Naderi A, Siadat SA, Aieneband A, Noormohamadi G (2006) Effect of different levels of nitrogen and plant density on grain yield and its components and water use efficiency of maize (*Zea mays* L.) cv. SC704 under different moisture conditions in Khuzestan. Journal of Agricultural Science 8:2: 153-170. [in Persian with English abstract]
11. Matysik J, Alia Bhalu B, Mohanty P (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. Current Science 82: 525-532.
12. Montero-BarrientosM, Hermosa R, Elena Cardoza R, Monte E (2010) Transgenic expression of the *Trichoderma harzianum* hsp70 gene increases Arabidopsis resistance to heat and other abiotic stress. Journal of Plant Physiology 167: 659-665.
13. Mittler R, Zilinskas B (1992) Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase. Journal of Biological Chemistry 30: 21802-21807.
14. Pirzad A, Shakiba MR, Zehtab Salmasi S, Mohamadi SA (2015) Effect of water stress on absorption of some nutrients in *Matricaria chamomilla* L. Agriculture Journal 106:1-7. [in Persian with English abstract]
15. Rejeb KB, Abdelly C, Savouré A (2014) How reactive oxygen species and proline face stress together. Plant Physiol Biochem 80:278-284.
16. Sato Y, Yokoya S (2008) Enhanced tolerance to drought stress in transgenic rice plants overexpressing a small heat-shock protein, sHSP17. 7. Plant Cell Reports 27(2):329-334.
17. Schmittgen TD, Livak KJ (2008) Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. Nature Protocols 3: 1101-1108.
18. Sung DY, Vierling E, Guy CL (2001) Comprehensive expression profile analysis of the Arabidopsis Hsp70 gene family. Plant Physiology 126: 789–800.
19. Wu QS, Xia RX (2006) Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology 163(4): 417-425.

Physiological reactions and thermal protein dynamics in coneflower under drought stress

Agroecology Journal

Vol. 14, No. 4 (25 - 32)
(winter, 2019)

Kosar Moradi, Fariba Khalili✉

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
✉ faribakhalili644@yahoo.com **(corresponding author)**

Received: 03 August 2018 **Accepted:** 09 January 2019

Abstract Plant cells have evolved to understand the various signals in their surroundings and respond to them by modulating the expression of genes. Drought is a natural and recurrent climatic feature in most parts of the world and plays an important and limiting role in crop yields. In this study, to ensure the stress on the medicinal herb of coneflower (*Echinacea purpurea*), the proline, potassium, phosphorus and nitrogen content of the leaves were evaluated in a completely randomized design with three replications, each of which was repeated in three pots. Also, expression of heat shock proteins in leaf tissue under four levels of drought stress irrigation at 25%, 50%, 75% and 85% of crop capacity was evaluated. The results showed a significant increase in the amount of proline, potassium, phosphorus and nitrogen in leaf tissue. Also, examination of thermal shock protein expression using Real-Time PCR indicated that drought stress significantly increased expression of heat shock protein in all studied treatments, which also proved the changes caused by stress. In general, the coneflower plant resists some degree of resistance using of some protective mechanisms, such as increasing proline and heat shock proteins content.

Keywords

- *Echinace purpurea*
- heat shock protein
- abiotic stress
- Prolin

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

DOI: 10.22034/AEJ.2018.545685