

تعدیل تنش دمای بالا با ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در گیاهچه فلفل کالیفرنیا واندر

چکیده

به منظور بررسی اثر ترهالوز و سولفید سدیم بر تعدیل اثرات تنش گرمایی در گیاهچه‌های فلفل کالیفرنیا واندر آزمایشی در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، محلول‌پاشی ترهالوز در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، محلول‌پاشی هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و محلول‌پاشی ترکیبی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بودند. نتایج نشان داد تنش گرمایی سبب کاهش رشد رویشی، وزن تر و وزن خشک اندام گیاهچه‌های فلفل شد. تنش گرمایی محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی را کاهش داد و کاربرد ترکیب ترهالوز و هیدروسولفید سدیم افزایش ۱/۶۳، ۲/۵۵ و ۲/۴۰ برابری محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید را در مقایسه با بیمار فاقد محلول‌پاشی در دمای ۴۰ درجه به همراه داشت. تنش گرمایی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز، آسکوبات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گردید. همچنین محتوای آسکوربیک اسید و آنتوسیانین نیز در اثر تنش در گیاهچه‌ها افزایش یافت و کاربرد ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در دمای بالا به ترتیب سبب افزایش ۱/۷۲ و ۲/۵۰ برابری محتوای آسکوربیک اسید و آنتوسیانین شد. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد محلول‌پاشی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم از طریق بهبود شاخص‌های رشدی، افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و تجمع متابولیت‌های ثانویه نقش مؤثری در کاهش اثرات منفی تنش گرمایی و افزایش تحمل به گرما در دانه‌های فلفل کالیفرنیا واندر ایفا می‌کند.

کلیدواژه‌ها: آسکوربیک اسید، آنتوسیانین، تنش گرمایی، محلول‌پاشی

Modulating High Temperature Stress with Trehalose and Sodium Hydrosulfide in California Wonder Pepper Seedling

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of trehalose and sodium hydrosulfide on mitigating high temperature stress in *Capsicum annuum* cv. California Wonder seedlings, an experiment was conducted at the research greenhouse of the Faculty of Agriculture, University of Zabol, using a completely randomized design with three replications. The experimental treatments included the temperature of 25°C, the temperature of 40°C, foliar application of trehalose at the temperature of 40°C, foliar application of sodium hydrosulfide at the temperature of 40°C and combined foliar application of trehalose and sodium hydrosulfide at the temperature of 40°C. The results showed that heat stress significantly reduced vegetative growth, shoot fresh and dry weight. Heat stress also decreased content of photosynthetic pigments, while the combined foliar application of trehalose and sodium hydrosulfide at the temperature of 40°C increased chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids content by 1.63, 2.55, and 2.40 times, respectively, compared to untreated plants under heat stress. Heat stress increased the activity of catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase antioxidant enzymes. Moreover, heat stress increased the contents of ascorbic acid and anthocyanin contents. Foliar application of trehalose and sodium hydrosulfide at the temperature of 40°C increased the contents of ascorbic acid and anthocyanin by 1.72 and 2.50 times compared to the temperature of 40°C. The results also demonstrated that the foliar application of trehalose and sodium hydrosulfide effectively alleviated the adverse effects of heat stress in California Wonder Pepper Seedlings via enhancing growth parameters, photosynthetic pigment content, antioxidant defense system, and the accumulation of secondary osmolytes.

Keywords: Anthocyanin, Ascorbic acid, Foliar application, Heat stress

مقدمه

افزایش دمای جهانی و بروز مکرر دوره‌های گرمای شدید، یکی از جدی‌ترین تهدیدها برای امنیت غذایی و تولید پایدار محصولات کشاورزی به‌شمار می‌رود. در میان عوامل غیرزیستی محدودکننده تولید محصولات کشاورزی، تنش‌های محیطی نقش بسزایی در کاهش رشد و عملکرد گیاهان ایفا می‌کنند (Dos Santos et al., 2022). از جمله این عوامل، دمای بالاست که یکی از چالش‌برانگیزترین تنش‌ها محسوب می‌شود که

اثرات زیان‌باری بر رشد و نمو گیاهان بر جای می‌گذارد (Kompas et al., 2024). افزایش غیرطبیعی دما می‌تواند نظم فرآیندهای مهمی نظیر جذب آب و عناصر غذایی، فتوسنتز و تنفس را مختل کرده و منجر به نابودی کامل گیاه و کاهش قابل توجه عملکرد گردد. همچنین تنش دمای بالا منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده که وقوع تنش اکسیداتیو را به دنبال دارد (Zahra et al., 2023). بنابراین، شناسایی راهبردهای مؤثر برای حفظ یا افزایش عملکرد محصولات کشاورزی در شرایط دمایی نامطلوب، یکی از نیازهای حیاتی در کشاورزی مدرن به‌شمار می‌رود (Hemantaranjan et al., 2018).

در سال‌های اخیر به‌منظور افزایش تحمل گیاهان به تنش دمای بالا راهکارهای مختلفی ایجاد شده است. محلول‌پاشی ترکیبات شیمیایی به‌عنوان محرک‌های دفاعی، یک استراتژی مؤثر برای بهبود مقاومت گیاهان در برابر تنش دمای بالا است. این رویکرد، به‌ویژه در مناطقی که با افزایش شدید دما مواجه هستند، می‌تواند به پایداری تولید و کاهش خسارات ناشی از تغییرات اقلیمی کمک کند (Raza et al., 2024). ترهالوز یک دی‌ساکارید طبیعی است که از دو واحد گلوکز متصل به یکدیگر تشکیل شده است. این قند در بسیاری از موجودات زنده از جمله گیاهان، قارچ‌ها، برخی حشرات و میکروارگانیسم‌ها وجود داشته و به دلیل پایداری شیمیایی بالا و توانایی آن در حفظ ساختارهای زیستی از اهمیت قابل توجهی برخوردار است (Hassan et al., 2023). یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های ترهالوز، توانایی آن در محافظت از سلول‌ها و پروتئین‌ها در شرایط تنش‌های محیطی است. این قند با تشکیل یک ماتریکس پایدار پیرامون ساختارهای سلولی، مانع از تخریب ساختار پروتئین‌ها و غشاهای سلولی شده و به همین دلیل در بهبود تحمل به تنش، نقش کلیدی ایفا می‌کند (Raza et al., 2024). هیدروسولفید سدیم با فرمول شیمیایی NaHS ترکیبی معدنی بوده که از واکنش گاز هیدروژن سولفید با هیدروکسید سدیم حاصل شده و به‌عنوان یک مولکول ایجادکننده سیگنال چند منظوره در تعدیل آثار منفی تنش‌های محیطی در گیاه نقش دارد (Li et al., 2024). در پژوهشی گزارش شد هیدروسولفید سدیم با افزایش راندمان سیستم آنتی‌اکسیدانی، افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، حفظ آب سلولی، ساختار پروتئینی و کاهش آسیب به غشای سلول، تحمل به تنش دمای بالا در گندم را افزایش داد (Yang et al., 2016). همچنین بیان شد کاربرد برگی هیدروسولفید سدیم تحمل گیاه *Nicotiana tabacum* L. را به تنش دمای بالا از طریق افزایش محتوای فنل، فلاونوئید، قند و کربوهیدرات محلول افزایش داد (Li et al., 2012).

فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum*) یکی از محصولات مهم کشاورزی است که نه‌تنها به دلیل ارزش اقتصادی، بلکه به‌خاطر ارزش غذایی میوه‌های آن بسیار مورد توجه قرار دارد. میوه فلفل سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولی، ویتامین C و کاروتنوئیدها می‌باشد. مصرف این ترکیبات در رژیم غذایی، نقش مؤثری در حفظ سلامت انسان ایفا می‌کند. در بین ارقام مختلف فلفل دلمه‌ای، رقم کالیفرنیا واندل یکی از شناخته‌شده‌ترین و پرطرفدارترین انواع فلفل دلمه‌ای در دنیا با طعمی شیرین و بدون تند است. فلفل کالیفرنیا واندل به دمای بالا حساس است. دمای بالاتر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد در مراحل رشد رویشی و زایشی به شدت بر عملکرد میوه تأثیر می‌گذارد (فاتح و برزگر، ۱۳۹۸). با توجه به موارد ذکر شده و از آنجا که در حال حاضر گزارشی در مورد بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و مکانیسم‌های تحمل به تنش دمای بالا در فلفل کالیفرنیا واندل وجود ندارد، این آزمایش با هدف بررسی تأثیر ترکیبات شیمیایی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در شرایط تنش دمای بالا بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی فلفل کالیفرنیا واندل انجام گرفت.

پیشینه پژوهش

اثر تنش دمای بالا بر کاهش رشد و عملکرد در گیاهان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. محققان بیان کردند تنش دمای بالا منجر به کاهش ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های جانبی، وزن خشک برگ‌ها و ریشه‌ها، سطح برگ و کاهش وزن تر و خشک گیاه می‌شود (Rehman et al., 2021; Kim et al., 2023). در پژوهشی گزارش شد وقوع تنش گرمایی باعث بسته شدن روزنه‌ها و محدود شدن انتقال دی‌اکسیدکربن به درون کلروپلاست‌ها و کاهش سرعت فتوسنتز فلفل شد (Motamedi et al., 2019). محققان بیان کردند تنش دمای بالا منجر به بروز تغییرات

بیوشیمیایی از جمله تخریب مولکول کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی، ایجاد تنش اکسیداتیو از طریق افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، نشت یونی، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین در فلفل (Saeed et al., 2023) و سیب‌زمینی (Naher et al., 2024) گردید. نتایج تحقیقات نشان داد ترهالوز با فعال‌سازی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه و تنظیم مسیرهای سیگنالینگ هورمون‌ها، بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی را در گیاه افزایش داده و با تثبیت غشاهای زیستی و پروتئین‌ها، احتمال اکسیداسیون لیپیدها و تخریب ساختار پروتئین‌ها را در دمای بالا کاهش می‌دهد (Luo et al., 2008). در تحقیقی دیگر گزارش شد کاربرد هیدروسولفید سدیم در شرایط تنش گرمایی فعال‌سازی مسیرهای دفاعی مرتبط با تنش را به دنبال داشت. این فرآیندها شامل افزایش بیان ژن‌های مربوط به پروتئین‌های شوک حرارتی، آنتی‌اکسیدان‌ها و تنظیم هومئوستازی آسکوربات/گلوتاتیون بوده که به حفظ تعادل اکسیداتیو و کاهش آسیب‌های ناشی از گرما کمک می‌کند (Kaya & Shabala, 2023). همچنین بیان شد کاربرد هیدروسولفید سدیم منجر به بهبود تحمل به تنش‌های محیطی در توت‌فرنگی (Christou et al., 2014)، تنباکو (Li et al., 2012)، فلفل (Wang et al., 2022) و گوجه‌فرنگی (Fang et al., 2024) از طریق افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شد.

روش‌شناسی پژوهش

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل در سال ۱۴۰۳ اجرا درآمد. تیمارهای آزمایش شامل (۱) برقراری دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد)، (۲) برقراری دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (تنش دمای بالا)، (۳) محلول‌پاشی با ترهالوز ۵۰ میلی‌مول در لیتر و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، (۴) محلول‌پاشی با هیدروسولفید سدیم یک میلی‌مول در لیتر و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و (۵) محلول‌پاشی ترکیبی با هیدروسولفید سدیم (یک میلی‌مول در لیتر) و ترهالوز (۵۰ میلی‌مول در لیتر) و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بودند. بذر فلفل دلمه‌ای کالیفرنیا و اندر از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. پیش از آغاز آزمایش، به‌منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بافت خاک، نمونه‌برداری از خاک صورت گرفت (جدول ۱). جهت ضدعفونی کردن بذر، ابتدا بذور با مایع ظرف‌شویی آغشته شده و سه مرتبه با آب مقطر شسته شدند. در مرحله بعد، بذرها با استفاده از قارچ کش بنومیل به‌میزان دو گرم در یک لیتر آب و به‌مدت ۴۵ دقیقه ضدعفونی گردیدند. سپس بذرها در سینی‌های نشا (مخلوط کوکوپیت و پرلیت با نسبت ۲:۱) کشت و پس از رسیدن به مرحله چهار برگی (۲۸ روز پس از کاشت) به گلدان‌های پلاستیکی منتقل شدند. واحدهای آزمایشی شامل گلدان‌های با قطر ۱۶ و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر بود که با دو و نیم کیلوگرم خاک (مخلوط پرلیت، پیت ماس و خاک باغچه با نسبت ۱:۱:۱) پر و یک عدد نشاء در هر واحد آزمایشی کشت شد. طول دوره تاریکی و روشنایی در گلخانه به‌ترتیب ۸ و ۱۶ ساعت در نظر گرفته شد. در طی فصل رشد آبیاری گلدان‌ها با توجه به ظرفیت زراعی گلدان انجام گرفت. بدین صورت که هر ۵-۲ روز یک‌بار بسته به شرایط فصل رشد و شدت تبخیر، آبیاری صورت گرفت. اعمال تیمارهای محلول‌پاشی با ترکیبات شیمیایی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در مرحله شش برگی (۳۶ روز پس از کاشت) و در سه مرحله به فاصله هر چهار روز یک‌بار (به‌مدت ۱۲ روز) انجام گرفت. در هر مرحله محلول‌پاشی، برای تیمارهای کاربرد ترهالوز و هیدروسولفید سدیم، ۱۰۰ میلی‌لیتر از هر محلول‌های گفته شده مورد استفاده قرار گرفت. در تیمار ترکیبی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم نیز ۱۰۰ میلی‌لیتر ترهالوز و ۱۰۰ میلی‌لیتر هیدروسولفید سدیم استفاده شد. همزمان نمونه‌های شاهد با آب‌مقطر محلول‌پاشی شدند. ۲۴ ساعت پس از آخرین محلول‌پاشی، بوته‌های فلفل کالیفرنیا و اندر به اتاقک رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۷۵ درصد و شدت نور ۶۰۰۰ لوکس (با استفاده از نور خورشید، نور مصنوعی حاصل از لامپ‌های فلورسانس و نور زرد) منتقل شدند. جهت اعمال تیمار تنش گرمایی، دمای اتاقک رشد از ۲۵ درجه سانتی‌گراد به صورت تدریجی هر ۲۴ ساعت، پنج درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد افزایش پیدا کرد. در مجموع ۷۲ ساعت طول کشید تا دمای اتاقک رشد به ۴۰ درجه سانتی‌گراد برسد. گیاهچه‌ها در هر محدوده دمایی به مدت ۲۴ ساعت در اتاقک رشد

باقی مانده و بلافاصله پس از پایان اعمال تنش دمای بالا، صفات رشدی اندازه‌گیری گردید. نمونه‌برداری جهت بررسی صفات رشدی و بیوشیمیایی ۵۳ روز پس از کاشت انجام شد. بدین صورت که از برگ‌های گیاه نمونه‌برداری و نمونه‌ها در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت انجام آنالیزهای بیوشیمیایی نگهداری شد.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

pH	EC	پتاسیم (%)	فسفر (%)	نیترोजن (%)	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)	بافت خاک
۷/۲۱	۴/۰۲	۶۰۲	۱۶	۰/۱۳	۷۶	۱۰	۹	شنی لومی

صفات رشدی (ارتفاع بوته و سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی)

۲۴ ساعت پس از تنش دمایی، ارتفاع گیاهچه از سطح خاک تا انتهای ساقه و با استفاده از خط‌کش (بر حسب سانتی‌متر) اندازه‌گیری شد. همچنین تعداد برگ در هر بوته نیز در همین زمان شمارش و ثبت شد. پس از پایان اعمال تنش دمایی، بوته‌ها از محل طوقه قطع و با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و وزن تر اندام هوایی ثبت گردید. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و وزن خشک اندام هوایی با ترازوی دیجیتال (دقت ۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری و ثبت شد.

صفات بیوشیمیایی

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کاروتنوئید) مقدار ۰/۱ گرم برگ تازه در هاون چینی با ازت مایع کاملاً پودر و با هشت میلی‌لیتر اتانول استون (با نسبت حجمی ۱:۱) در دمای محیط مخلوط و جهت تجزیه کامل کلروفیل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Specord plus, 210) جذب محلول در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳، ۴۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ از روابط زیر استفاده شد (Gratani, 1992).

$$Chla \text{ (mg / g FW)} = 12 \cdot 21 A663 - 2 \cdot 81 A646 \quad \text{رابطه ۱}$$

$$Chlb \text{ (mg / g FW)} = 20 \cdot 13 A646 - 5 \cdot 03 A663 \quad \text{رابطه ۲}$$

$$Car \text{ (mg / g FW)} = (1000 A470 - 3 \cdot 27 Chla - 140 Chlb) / 198 \quad \text{رابطه ۳}$$

در این روابط، Chla کلروفیل a، Chlb کلروفیل b، Car کاروتنوئید و A، میزان جذب خوانش شده در هر طول موج است.

محتوای نسبی آب برگ

جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ ابتدا نمونه‌های برگ توزین و به مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفته و وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. با قرار دادن اعداد بدست آمده در فرمول زیر محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید (Ritchie & Nguyen, 1990).

$$RWC \text{ (\%)} = \frac{FW - DW}{(SW - DW)} * 100 \quad \text{رابطه ۴}$$

در این رابطه، FW وزن تر برگ بلافاصله پس از برداشت، DW وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون، SW وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب است.

محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید

ابتدا ۰/۱ گرم بافت برگ با یک میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد مخلوط و عصاره حاصل شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد و با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محتوای پراکسید هیدروژن به روش (Loreto & Velikova, 2001) و محتوای مالون دی آلدئید به روش (Shafeiee & Ehsanzadeh, 2019) به ترتیب در طول موج‌های ۳۹۰ و ۵۳۲ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Specord plus, 210) اندازه گیری گردید.

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان

جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ابتدا استخراج عصاره آنزیم انجام شد. جهت عصاره گیری ۰/۵ گرم بافت تر برگ با پنج میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار با اسیدیته ۷/۶ که حاوی EDTA یک میلی مولار و PVP چهار درصد بود در هاون چینی سرد خرد و هموژن گردید. محلول هموژن شده با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از اتمام سانتریفیوژ فاز شفاف رویی جدا و برای سنجش فعالیت آنزیم‌های مورد نظر استفاده شد (Ahmad et al., 2019). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش (Giannopolitis & Ries, 1977)، آنزیم پراکسیداز به روش (Hammerschmidt et al., 1982)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش (Nakano & Asada, 1981) و آنزیم کاتالاز به روش (Beers & Sizer, 1952) اندازه گیری شد.

محتوای اسید آسکوربیک

محتوای اسید آسکوربیک بر اساس کاهش رنگ ترکیب دی کلروفنول ایندوفنول توسط اسید آسکوربیک اسید اندازه گیری شد. بدین صورت که ابتدا یک میلی گرم بافت برگ با سه میلی لیتر اسید متافسفربیک یک درصد به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط و عصاره استخراج به دست آمد. سپس عصاره با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از مایع رویی برداشته و به آن ۲۰۰ میکرولیتر دی کلروفنول ایندوفنول اضافه شد. میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Specord plus, 210) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت اسید آسکوربیک با استفاده از خط درجه بندی تهیه شده از غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) در حضور ترکیب دی کلروفنول ایندوفنول محاسبه گردید و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش شد (Chang et al., 2002).

محتوای آنتوسیانین

به منظور اندازه گیری محتوای آنتوسیانین کل برگ، ابتدا مقدار یک گرم از بافت تازه برداشته و در ۲۰ میلی لیتر اتانول ۶۰ درصد به مدت دو ساعت در حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از یک فلاسک حجمی فیلتر گردید. سپس میزان جذب محلول بالایی در طول موج ۵۳۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Specord plus, 210) قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر غلظت آنتوسیانین محاسبه گردید (Mazza et al., 2004).

$$A = \varepsilon \times C \times L \quad \text{رابطه ۵}$$

$$C (\mu\text{mol/g FW}) = \frac{A}{\varepsilon} * L \quad \text{رابطه ۶}$$

در این روابط، A مقدار جذب عصاره، ε ضریب خاموشی (۳۳۰۰۰ مول بر سانتی متر)، C غلظت آنتوسیانین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ و L عرض کووت (یک سانتی متر) است.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2019 استفاده شد.

یافته‌های پژوهش

ارتفاع گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ترکیبات شیمیایی بر ارتفاع گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). تنش دمایی بالا نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش ۱/۵۷ برابری ارتفاع گیاهچه فلفل کالیفرنیا و اندر شد. کاربرد ترکیبات شیمیایی تنظیم‌کننده رشد توانست اثر منفی تنش دمایی بالا بر کاهش ارتفاع گیاهچه را تعدیل کند. محلول‌پاشی با ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب این دو ماده شیمیایی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب منجر به افزایش ۱/۱۱، ۱/۱۷ و ۱/۲۷ برابری ارتفاع گیاهچه نسبت به عدم کاربرد این ترکیبات در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد شد (جدول ۲).

تعداد برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمارهای مورد بررسی بر تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). وقوع تنش گرمایی کاهش ۱/۶۴ برابری تعداد برگ در گیاهچه فلفل کالیفرنیا و اندر را نسبت به شاهد (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به همراه داشت. محلول‌پاشی با ترکیبات شیمیایی مورد بررسی اثر منفی تنش دمایی بالا بر کاهش تعداد برگ در گیاهچه را کاهش داد. کاربرد ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب این دو ماده شیمیایی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب منجر به افزایش ۱/۱۱، ۱/۲۳ و ۱/۴۱ برابری تعداد برگ نسبت به عدم کاربرد این ترکیبات شیمیایی در همین دما شد (جدول ۲).

وزن تر اندام هوایی گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس حاکی از این بود که اثر ترکیبات شیمیایی بر وزن تر اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در شرایط تنش دمایی بالا و عدم کاربرد ترکیبات شیمیایی، وزن تر اندام هوایی فلفل کالیفرنیا و اندر به شدت کاهش پیدا کرد. بیشترین و کمترین وزن تر اندام هوایی گیاهچه به ترتیب در تیمار دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۸/۱۱ گرم در بوته) و تیمار دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (۳/۳۰ گرم در بوته) ثبت شد. در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد وزن تر اندام هوایی گیاهچه در تیمارهای محلول‌پاشی با ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب این دو ماده شیمیایی به ترتیب ۱/۲۱، ۱/۶۹ و ۱/۹۱ برابر نسبت به عدم کاربرد آن‌ها افزایش پیدا کرد (جدول ۲).

وزن خشک اندام هوایی گیاهچه

بر اساس نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس اثر تیمار بر وزن خشک اندام هوایی گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد وزن خشک اندام هوایی گیاهچه نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۳/۹۱ برابر کاهش پیدا کرد. کاربرد ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب این دو ماده شیمیایی در شرایط تنش گرمایی وزن خشک اندام هوایی گیاهچه فلفل کالیفرنیا و اندر را در مقایسه با عدم کاربرد این ترکیبات شیمیایی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱/۹۱، ۲/۵۰ و ۲/۶۶ برابر افزایش داد (جدول ۲).

جدول ۲. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثر ترکیبات شیمیایی بر صفات مورفولوژیکی و وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهچه فلفل دلمه‌ای کالیفرنیا و اندر

میانگین مربعات					منابع تغییرات
درجه آزادی	ارتفاع گیاهچه	تعداد برگ	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	
۴	۱۰/۶۳ **	۶/۲۳ **	۹/۱۶ **	۲/۹۳ **	تیمار
۱۰	۰/۵۳	۰/۴۰	۰/۸۶	۰/۲۸	خطای آزمایشی
----	۶/۸۶	۸/۷۰	۱۱/۶۴	۱۶/۵۸	ضریب تغییرات

میانگین مربعات				
تیمار	ارتفاع گیاهچه (سانتی متر)	تعداد برگ	وزن تر اندام هوایی (گرم در بوته)	وزن خشک اندام هوایی (گرم در بوته)
دمای ۲۵ درجه	۱۳/۶۶ ^a	۹/۳۳ ^a	۸/۱۱ ^a	۴/۷۰ ^a
دمای ۴۰ درجه	۸/۷۰ ^d	۵/۶۶ ^d	۲/۳۰ ^e	۱/۲۰ ^e
ترهالوز + دمای ۴۰ درجه	۹/۷۳ ^{cd}	۶/۳۰ ^{cd}	۴/۰۰ ^d	۲/۳۰ ^d
هیدروسولفید سدیم + دمای ۴۰ درجه	۱۰/۲۰ ^{bc}	۷/۰۰ ^{bc}	۵/۶۰ ^c	۳/۰۰ ^{bc}
ترهالوز و هیدروسولفید سدیم + دمای ۴۰ درجه	۱۱/۱۳ ^b	۸/۰۰ ^b	۶/۲۶ ^b	۳/۵۶ ^b

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشترک، اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند ($LSD \leq 5\%$).

کلروفیل a

نتایج تجزیه واریانس حاکی از این بود که اثر تیمار بر محتوای کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). با وقوع تنش گرمایی محتوای کلروفیل a، ۱/۸۲ برابر نسبت به شاهد کاهش یافت. در شرایط تنش گرمایی محلول پاشی با ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب این دو ماده شیمیایی توانست منجر به افزایش ۱/۲۳، ۱/۵۹ و ۱/۶۳ برابری محتوای کلروفیل a نسبت به عدم کاربرد این ترکیبات شیمیایی در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد شود (شکل ۱).

کلروفیل b

نتایج نشان داد اثر تیمارهای مورد بررسی بر محتوای کلروفیل b در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). محتوای کلروفیل b در تیمار تنش دمای بالا در مقایسه با شاهد ۳/۰۰ برابر کاهش یافت. در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد تیمارهای کاربرد ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب آن‌ها به ترتیب سبب افزایش ۲/۰۰، ۲/۴۵ و ۲/۵۵ برابری محتوای کلروفیل b نسبت به عدم کاربرد این ترکیبات در شرایط تنش دمای بالا (۴۰ درجه سانتی گراد) شد (شکل ۱).

کاروتنوئید

بر اساس نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس اثر تیمار بر محتوای کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). بیشترین محتوای کاروتنوئید در تیمار دمای ۲۵ درجه سانتی گراد (۰/۷۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد که فاقد اختلاف معنی دار با تیمار محلول پاشی ترکیبی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد (۰/۶۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود. کمترین میزان کاروتنوئید نیز در تیمار دمای ۴۰ درجه سانتی گراد (۰/۲۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) ثبت شد. محلول پاشی با ترهالوز، محلول پاشی با هیدروسولفید سدیم و محلول پاشی با ترکیب این دو ماده در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد افزایش ۱/۸۷، ۲/۴۱ و ۲/۴۰ برابری محتوای کاروتنوئید در مقایسه با عدم کاربرد این ترکیبات شیمیایی در شرایط تنش دمای بالا را به همراه داشت (شکل ۱).

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر ترکیبات شیمیایی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب برگ و نشانگرهای تنش اکسیداتیو در گیاهچه فلفل دلمه‌ای

کالیفرنیا و اندر

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
مالون دی آلدهید	پراکسید هیدروژن	محتوای نسبی آب برگ	کاروتنوئید	کلروفیل b		
۰/۰۳ **	۰/۰۹ **	۱۹۹/۲۶ *	۰/۱۰ **	۰/۰۲ **	۴	تیمار
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۳/۶۶	۰/۰۰۸	۰/۰۰۱	۱۰	خطای آزمایشی

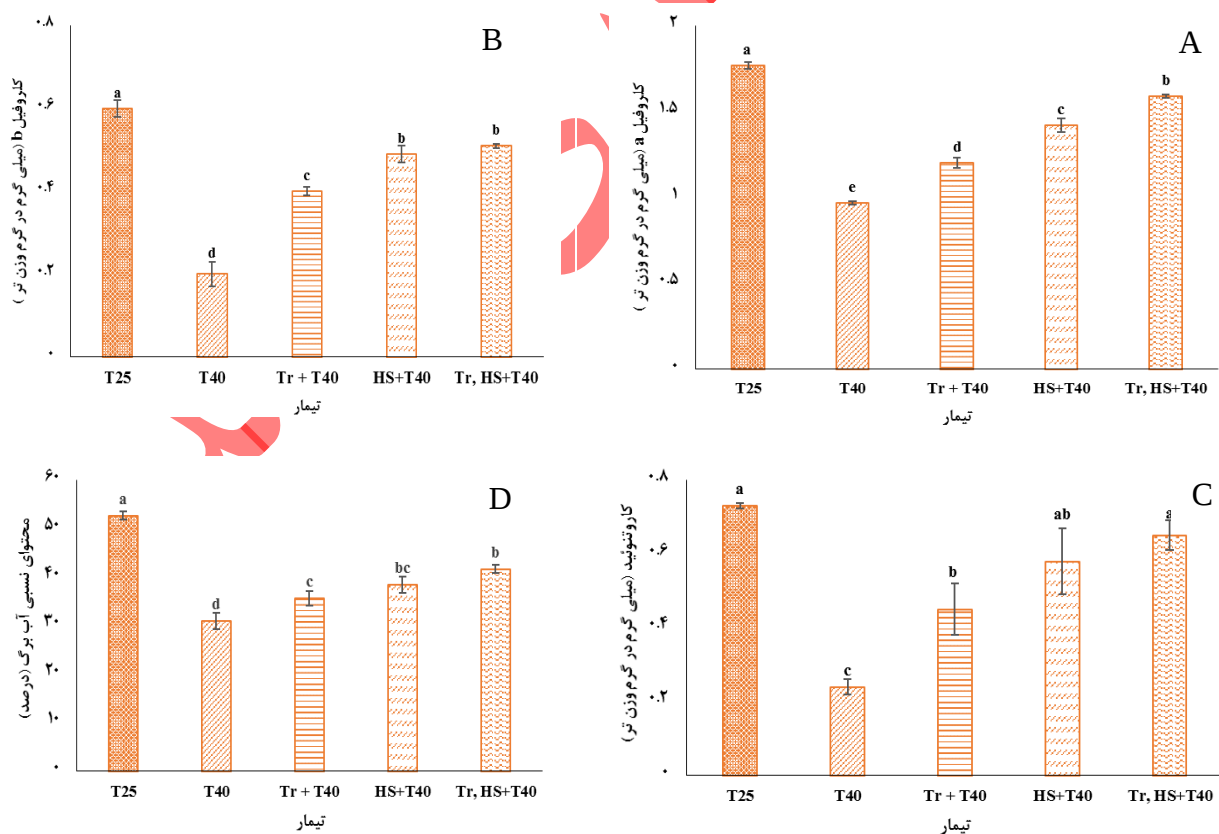
۱۵/۳۲	۱۰/۵۸	۴/۸۰	۷/۰۰	۸/۷۸	۲/۸۷	-----	ضریب تغییرات
* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد							

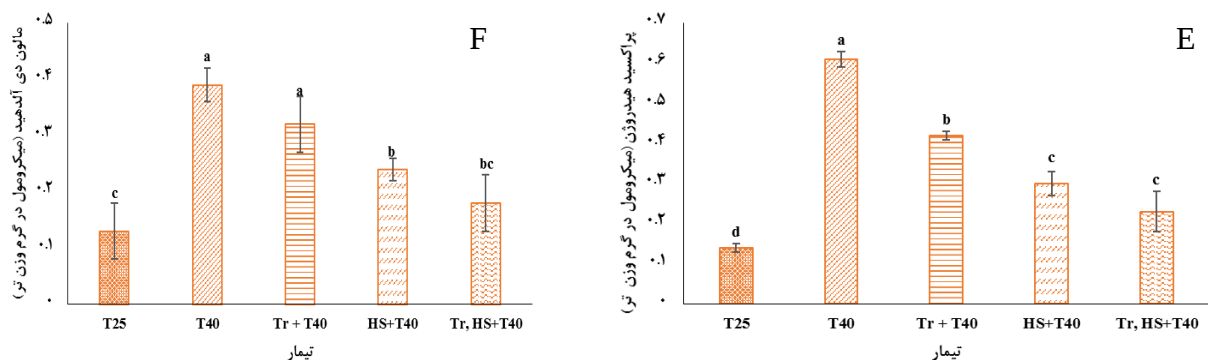
محتوای نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس حاکی از این بود که اثر ترکیبات شیمیایی بر محتوای نسبی آب برگ گیاهچه‌ها فلفل دلمه‌ای در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود (جدول ۳). افزایش شدت تنش گرمایی محتوای نسبی آب برگ را به طور قابل توجهی کاهش داد. بیشترین و کمترین محتوای نسبی آب برگ به ترتیب در تیمارهای دمای ۲۵ درجه سانتی گراد (۵۲/۶۶ درصد) و دمای ۴۰ درجه سانتی گراد (۳۱/۰۰ درصد) به ثبت رسید. محتوای نسبی آب برگ در تیمارهای کاربرد ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب این دو ماده شیمیایی و تنش دمای بالا در مقایسه با عدم کاربرد آن‌ها در همین دما به ترتیب ۱/۱۵، ۱/۲۳ و ۱/۳۴ برابر افزایش یافت (شکل ۱).

محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدید

بر اساس نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس اثر تیمار بر محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدید در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). تنش دمای بالا منجر به افزایش ۴/۳۵ برابری محتوای پراکسید هیدروژن و افزایش ۳/۰۰ برابری مالون دی آلدید نسبت به شاهد شد. محلول پاشی ترکیبی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در شرایط تنش دمای بالا به ترتیب سبب کاهش ۲/۶۵ و ۲/۱۶ برابری پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدید در مقایسه با عدم کاربرد آن‌ها در همین دما شد (شکل ۱).





شکل ۱. مقایسه میانگین اثر ترکیبات شیمیایی بر کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کاروتنوئید (C)، محتوای نسبی آب برگ (D)، پراکسید هیدروژن (E) و مالون دی آلدید (F) گیاهچه فلفل دلمه‌ای کالیفرنیا و اندر در شرایط تنش دمای بالا
 T25: دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، T40: دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، Tr + T40: محلول‌پاشی با ترهالوز در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، HS+T40: محلول‌پاشی با هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، Tr, HS+T40: محلول‌پاشی با ترکیب ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد
 میانگین‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (LSD ≤ ۵ %).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

بر اساس نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس اثر تیمار بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بود (جدول ۴). با افزایش شدت تنش گرمایی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز افزایش یافت. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای محلول‌پاشی با ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب ترهالوز و هیدروسولفید سدیم و دمای ۴۰ درجه نسبت به عدم کاربرد این ترکیبات در همین دما به ترتیب ۱/۱۴، ۱/۳۶ و ۱/۵۳ برابر افزایش پیدا کرد (شکل ۲).

جدول ۴. تجزیه واریانس اثر ترکیبات شیمیایی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسید آسکوربیک و آنتوسیانین گیاهچه فلفل دلمه‌ای کالیفرنیا و اندر

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
آنتوسیانین	اسید آسکوربیک	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز		
۴/۰۳**	۱۳۶۰/۹۲**	۱۹۹/۲۶**	۰/۱۰**	۰/۰۲**	۰/۰۹**	۴	تیمار
۰/۱۴	۵/۵۶	۳/۶۶	۰/۰۰۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۱۰	خطای آزمایشی
۱۲/۴۳	۶/۶۹	۴/۸۰	۷/۰۰	۸/۷۸	۲/۸۷	---	ضریب تغییرات

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

آنزیم پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس حاکی از این بود که اثر تیمارهای مورد بررسی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و کاربرد ترکیبی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم (۲/۹۲ واحد فعالیت در میلی‌گرم وزن تر) و تیمار دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۱/۱۲ واحد فعالیت در میلی‌گرم وزن تر) بود.

وزن تر) به ثبت رسید. در شرایط تنش گرمایی محلول پاشی با ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در مقایسه با عدم کاربرد آن‌ها در همین دما منجر به افزایش ۱/۲۰، ۱/۵۶ و ۱/۹۵ برابری فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (شکل ۲).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

بر اساس نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس اثر تیمار بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۴). تنش گرمایی افزایش ۱/۶۰ برابری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد را به دنبال داشت. محلول پاشی با ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه افزایش ۱/۲۵، ۱/۹۲ و ۱/۷۸ برابری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نسبت به عدم کاربرد این ترکیبات در همین دما به دنبال داشت (شکل ۲).

آنزیم کاتالاز

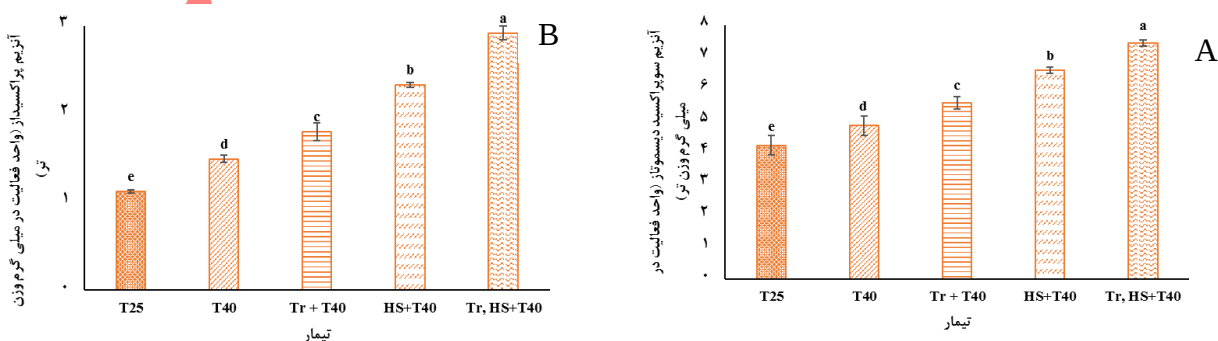
نتایج نشان داد اثر محلول پاشی با ترکیبات شیمیایی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). تنش دمای بالا فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داد. در تیمارهای محلول پاشی با ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به عدم کاربرد آن‌ها در همین دما فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب ۱/۳۲، ۱/۶۱ و ۱/۷۸ برابر بیشتر بود (شکل ۲).

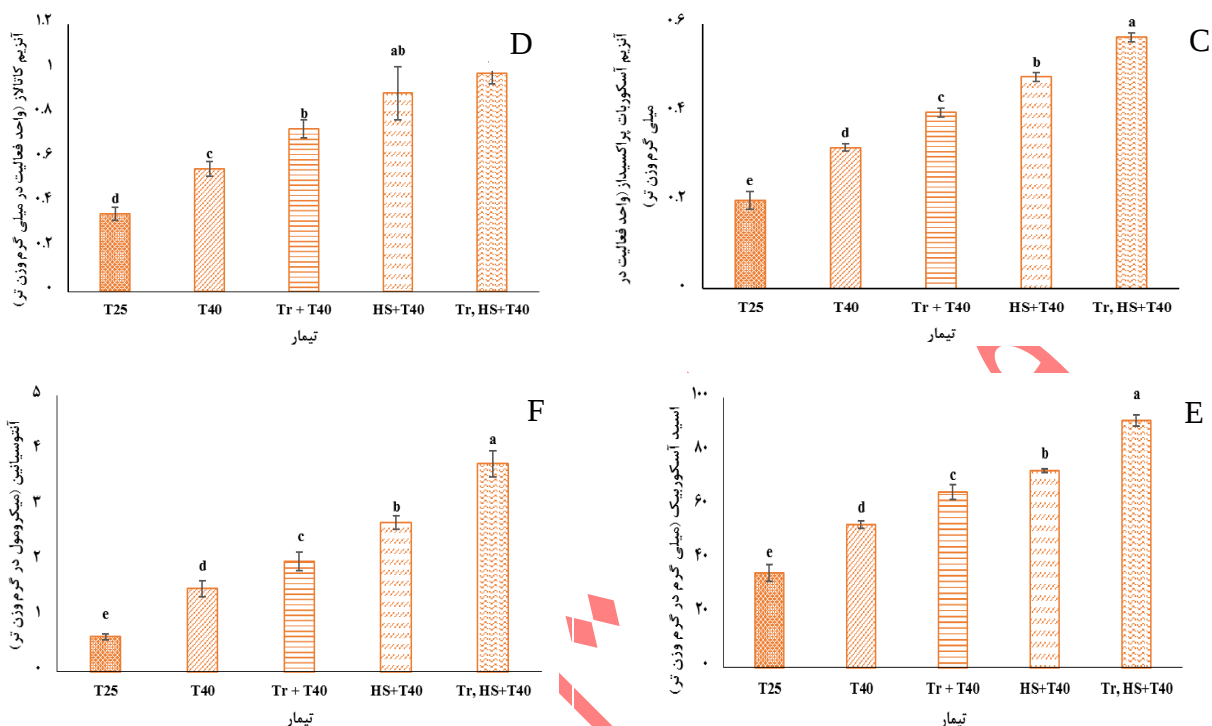
اسید آسکوربیک

نتایج حاکی از آن بود که اثر تیمارهای مورد بررسی بر محتوای اسید آسکوربیک معنی‌دار بود (جدول ۴). تنش گرمایی محتوای اسید آسکوربیک را افزایش داد. بیشترین محتوای اسید آسکوربیک در تیمار محلول پاشی ترکیبی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (۹۱/۵۰ میکرومول در گرم وزن تر) به دست آمد. کمترین محتوای اسید آسکوربیک نیز در تیمار شاهد (۳۵/۰۰ میکرومول در گرم وزن تر) مشاهده شد. محتوای اسید آسکوربیک در تیمارهای کاربرد ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب ترهالوز و هیدروسولفید سدیم و دمای ۴۰ درجه در مقایسه با عدم کاربرد این ترکیبات در این دما به ترتیب ۱/۲۲، ۱/۳۷ و ۱/۷۲ برابر افزایش یافت (شکل ۲).

آنتوسیانین

بر اساس نتایج به دست آمده اثر محلول پاشی با ترکیبات شیمیایی بر محتوای آنتوسیانین معنی‌دار بود (جدول ۴). افزایش شدت تنش گرمایی محتوای آنتوسیانین را در مقایسه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۱/۴۷ برابر افزایش داد. در شرایط تنش گرمایی کاربرد ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب ترهالوز و هیدروسولفید سدیم سبب افزایش ۱/۳۳، ۱/۸۰ و ۲/۵۰ برابری محتوای آنتوسیانین در مقایسه با عدم کاربرد این ترکیبات در این دما شد (شکل ۲).





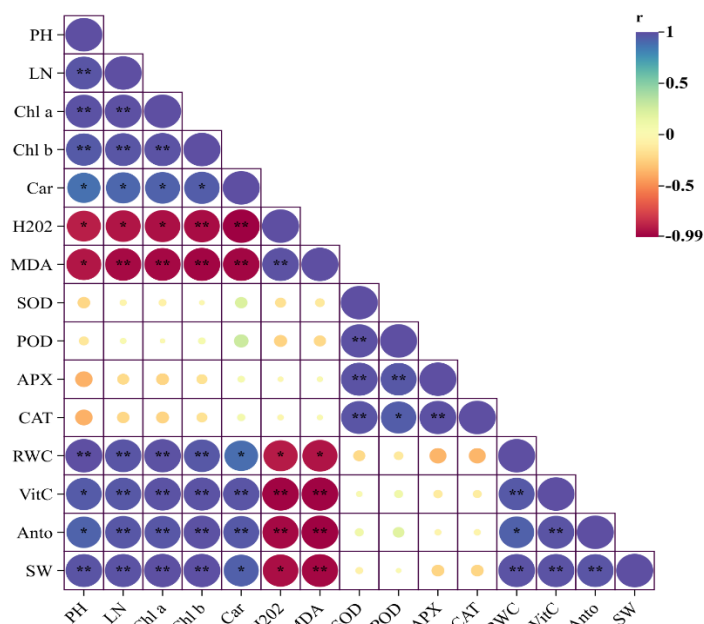
شکل ۲. مقایسه میانگین اثر ترکیبات شیمیایی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (A)، پراکسیداز (B)، آسکوربات پراکسیداز (C)، کاتالاز (D)، اسید آسکوربیک (E) و آنتوسیانین (F) در گیاهچه فلفل دلمه‌ای کالیفرنیا و اندر تحت شرایط تنش دمای بالا

T25: دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، T40: دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، Tr + T40: محلول پاشی با ترهالوز در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، HS+T40: محلول پاشی با هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، Tr, HS+T40: محلول پاشی با ترکیب ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد

میانگین‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($LSD \leq 5\%$).

همبستگی

نتایج بررسی همبستگی بین صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی با وزن تر اندام هوایی گیاهچه فلفل کالیفرنیا و اندر نشان داد همبستگی ارتفاع بوته و تعداد برگ با وزن تر اندام هوایی گیاهچه مثبت و معنی‌دار بود. همچنین همبستگی کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید نیز با وزن تر اندام هوایی گیاهچه مثبت و معنی‌دار بود. این همبستگی مثبت بیانگر آن است که افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاهچه می‌تواند منجر به بهبود رشد در شرایط تنش گرمایی شود. دلیل این ارتباط احتمالاً به نقش مستقیم رنگیزه‌ها در حفظ عملکرد فتوسنتزی و تولید انرژی مربوط است. عاملی که در شرایط تنش می‌تواند تعیین‌کننده بقا و رشد باشد. در مقابل پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدهید که به عنوان نشانگرهای آسیب اکسیداتیو شناخته می‌شوند با اغلب صفات رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب برگ، اسید آسکوربیک و آنتوسیانین دارای همبستگی منفی و معنی‌دار بودند. این نتایج حاکی از آن است که افزایش شدت تنش اکسیداتیو که در اثر تجمع گونه‌های اکسیژن فعال ایجاد می‌شود منجر به تخریب ساختارهای سلولی، کاهش رشد و عملکرد فتوسنتزی گیاه شده است. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز دارای همبستگی مثبت و قوی با یکدیگر بودند که بیانگر فعالیت هماهنگ سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به تنش گرمایی است. همبستگی اسید آسکوربیک، آنتوسیانین و محتوای نسبی رطوبت برگ با وزن تر اندام هوایی گیاهچه مثبت و معنی‌دار بود که حاکی از فعال شدن پاسخ‌های اسمولیتی و حفظ تعادل آبی گیاه در شرایط تنش گرماست (شکل ۳).



شکل ۳. همبستگی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی با وزن تر اندام هوایی گیاهچه فلفل دلمه‌ای کالیفرنیا و اندر

PH ارتفاع بوته، LN تعداد برگ، Chl a، Chl b کلروفیل، Car کاروتنوئید، H₂O₂ پراکسید هیدروژن، MDA مالون دی‌آلدید، CAT آنزیم کاتالاز، POD آنزیم پراکسیداز، APX آنزیم آسکوربات پراکسیداز، SOD آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، RWC محتوای نسبی آب برگ، VitC آسکوربیک اسید، Anto آنتوسیانین و SW وزن تر اندام

هوایی

* و ** معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

بحث

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش تنش دمای بالا منجر به کاهش رشد رویشی فلفل شد. کاهش معنی‌دار ارتفاع گیاهچه و تعداد برگ فلفل در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای مطلوب (۲۵ درجه سانتی‌گراد) را می‌توان نتیجه مجموعه‌ای از اختلالات فیزیولوژیکی ناشی از تنش گرمایی دانست. رشد طولی گیاهان، به‌ویژه در مرحله دانه‌پاشی، وابسته به تقسیم فعال سلول‌ها در نواحی مرستمی و افزایش حجم سلول از طریق جذب آب و کشش دیواره سلولی است. در دمای بالا، فعالیت آنزیم‌هایی که مسئول تقسیم سلولی و سنتز DNA هستند مختل شده و فشار تورژسانس سلولی کاهش می‌یابد. بنابراین رشد طولی به شدت محدود می‌شود (Korotko et al., 2021). از سوی دیگر، دمای بالا منجر به کاهش کارایی فتوسنتسم‌ها و آنزیم روبیسکو می‌گردد و تولید مواد فتوستتزی را محدود می‌شود. این کاهش در سنتز کربوهیدرات‌ها، مستقیماً بر رشد مرستم‌های ساقه و برگ اثر گذاشته و کاهش ارتفاع گیاهچه و تعداد برگ را به دنبال دارد (Salvucci et al., 2004). از سوی دیگر، گرمای زیاد تعادل هورمونی گیاه را نیز بر هم می‌زند. به‌ویژه با افزایش هورمون اتیلن و کاهش سیتوکینین و جیبرلین، شرایط برای ریزش زودهنگام برگ‌ها فراهم می‌شود که این موضوع منجر به کاهش تعداد برگ می‌شود (Al-Zahrani et al., 2022). کاهش ارتفاع گیاهچه و تعداد برگ فلفل با افزایش شدت تنش دمای بالا توسط سایر محققین گزارش شده (Utami et al., 2021) که همسو با نتایج این تحقیق است. محلول‌پاشی با ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و ترکیب این دو ماده، به‌طور معنی‌داری توانست از کاهش ارتفاع گیاهچه و تعداد برگ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد جلوگیری کند. پژوهشگران بیان کردند ترهالوز به عنوان یک دی‌ساکارید غیرکاهنده از طریق حفظ فشار تورژسانس سلولی، موجب تسهیل رشد طولی سلول‌ها در شرایط تنش گرمایی شده و به رشد طولی بوته کمک می‌کند (Zheng et al., 2024). این قند در شرایط تنش با ممانعت از تخریب ساختارهای حیاتی سلول، موجب حفظ سلامت بافت‌های مرستمی و استمرار فعالیت آن‌ها در تولید برگ می‌شود (Yogita et al., 2015). هیدروسولفید سدیم که منبع آزادسازی هیدروژن سولفید در گیاه است به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان، در تنظیم بیان

ژن‌های مرتبط با رشد رویشی نقش دارد (Sehar et al., 2022). در پژوهشی گزارش شد هیدروسولفید سدیم باعث بهبود وضعیت آبی گیاه در شرایط تنش و به تداوم رشد رویشی کمک می‌کند (Gautam et al., 2022). اثر هم‌افزایی ناشی از کاربرد همزمان ترهالوز و هیدروسولفید سدیم از طریق بهبود تعادل آبی، افزایش فتوسنتز و تنظیم هورمونی به شکل مؤثرتری از کاهش رشد رویشی در شرایط دمای بالا جلوگیری کرد (Zhang et al., 2020).

کاهش شدید وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهچه فلفل کالیفرنیا و اندر تحت تأثیر دمای بالا نشان‌دهنده اثر منفی تنش گرمایی بر رشد و تولید زیست‌توده در گیاه است. دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد با ایجاد اختلال در فرآیندهای مهمی نظیر فتوسنتز، فعالیت‌های متابولیکی و تعادل هورمونی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این شرایط، تنفس گیاه افزایش یافته و مصرف کربوهیدرات‌ها بیشتر از تولید آن‌ها می‌شود که نتیجه آن کاهش تولید و تجمع زیست‌توده است (Akter & Rafiqul Islam, 2017). همچنین، تنش گرما با تخریب ساختار پروتئین‌ها، افزایش نشت یونی از غشاهای و تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن باعث کاهش رشد و توقف گسترش بافت‌های رویشی می‌گردد، که به صورت کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهچه نمایان می‌شود (Gisbert-Mullor et al., 2021). کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهچه فلفل در شرایط تنش گرمایی پیش‌تر توسط سایر محققین گزارش شده است (Kim et al., 2023). ترهالوز با بهبود وضعیت اسمزی و حفظ تورژسانس سلولی به تداوم رشد و افزایش تجمع زیست‌توده کمک می‌کند (Hassan et al., 2023). هیدروسولفید سدیم نیز با فعال‌سازی سیستم‌های دفاعی گیاه، حفاظت از ساختار کلروپلاست و پایداری عملکرد فتوسنتزی منجر به افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهچه در شرایط تنش می‌شود (Iqbal et al., 2021).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد تنش گرمایی با کاهش قابل توجه محتوای کلروفیل a و b در برگ‌های فلفل کالیفرنیا و اندر، عملکرد فتوسنتزی گیاه را به شدت تحت تأثیر قرار داد. اولین اثر مستقیم دمای بالا، تخریب ساختار فیزیکی غشاهای کلروپلاست است که منجر به کاهش ثبات آن می‌شود. این اختلال در ساختار غشا منجر به کاهش قابلیت نگهداری کلروفیل در بافت برگ می‌گردد. دمای بالا همچنین می‌تواند موجب تغییر در غلظت و ترکیب لیپیدهای غشا شود که به‌طور مستقیم بر پایداری پروتئین‌های وابسته به کلروفیل اثر منفی گذاشته و منجر به کاهش محتوای کلروفیل a و b می‌شود (Zahra et al., 2023). تنش گرمایی فعالیت آنزیم‌های کلیدی دخیل در مسیر سنتز کلروفیل را کاهش و فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل مانند کلروفیل‌از را افزایش می‌دهد. این عدم تعادل بین سنتز و تجزیه کلروفیل موجب کاهش غلظت کلروفیل در برگ می‌شود (Rossi & Huang, 2023). گزارشات زیادی در خصوص کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی فلفل در شرایط تنش دمای بالا توسط محققین به ثبت رسیده است (Ghai et al., 2016; Bello et al., 2023). ترهالوز با کاهش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه از اکسیداسیون کلروفیل و پروتئین‌های کلروپلاست جلوگیری کرده و منجر به حفاظت از مولکول کلروفیل می‌گردد (Luo et al., 2023). هیدروسولفید سدیم نیز فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سنتز کلروفیل را تقویت کرده و می‌تواند نقش محافظتی در حفظ ساختار کلروپلاست و پروتئین‌های وابسته به کلروفیل داشته باشد (Gautam et al., 2022). زمانی که ترهالوز و هیدروسولفید سدیم به صورت ترکیبی مصرف می‌شود اثرات محافظتی آن‌ها تقویت شده و به طور هم‌افزا موجب حفاظت از مولکول کلروفیل در شرایط تنش می‌شوند.

کاروتنوئیدها رنگدانه‌های فتوسنتزی هستند که علاوه بر جذب نور در محدوده طول موج‌های خاص، نقش محافظتی مهمی در گیاه دارند. این رنگدانه‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و از کلروفیل‌ها و سایر ساختارهای سلولی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Xia et al., 2021). در شرایط تنش گرمایی فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز کاروتنوئید کاهش یافته و به تبع آن، عملکرد حفاظتی و فتوسنتزی گیاه تضعیف می‌گردد (Pérez-Gálvez et al., 2005). ترهالوز و هیدروسولفید سدیم مسیرهای بیوسنتز کاروتنوئید را تقویت و بیان ژن‌های مرتبط با تولید این رنگدانه را افزایش داده که بهبود محتوای کاروتنوئید را در شرایط تنش گرمایی به دنبال دارد (Li et al., 2024).

در شرایط دمای بالا، اختلال در عملکرد کلروپلاست‌ها و میتوکندری موجب نشت الکترون و افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند NADPH اکسیداز می‌شود که از منابع اصلی تولید پراکسید هیدروژن است. از طرفی تولید گونه‌های فعال اکسیژن، فرایند پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی را فعال کرده و ترکیباتی نظیر مالون دی‌آلدهید تولید می‌گردند. تولید بیش از حد پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید باعث آسیب به

غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA می‌شود (Li et al., 2024). افزایش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در پی افزایش شدت تنش دمای بالا در گوجه‌فرنگی (Zhou et al., 2019) گزارش شده که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. ترهالوز با ایفای نقش به‌عنوان یک اسمولیت محافظ، مانع نشت گونه‌های فعال اکسیژن از غشای اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست و میتوکندری می‌شود (Mittler et al., 2022). هیدروسولفید سدیم با بهبود وضعیت تعادل یونی و حفظ پایداری سلولی، از تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری می‌کند. حضور هیدروژن سولفید در شرایط تنش گرمایی می‌تواند از طریق تعامل با سایر مولکول‌های سیگنال‌دهنده نظیر نیترتیک اکسید و آسزیک اسید بر تقویت پاسخ دفاعی گیاه مؤثر باشد (Yang et al., 2016). تیمار ترکیبی ترهالوز و هیدروسولفید سدیم نسبت به کاربرد جداگانه هر یک از آن‌ها، تأثیر چشمگیرتری در کاهش پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید داشت. به نظر می‌رسد که این اثر افزایشی به دلیل هم‌زمانی مکانیسم‌های محافظتی متعدد از جمله مهار تولید و افزایش ظرفیت حذف گونه‌های فعال اکسیژن بوده باشد (Pandey & Gautam, 2020).

در تحقیق حاضر تنش دمای بالا محتوای نسبی آب برگ را کاهش داد. دمای بالا موجب افزایش تبخیر، کاهش جذب آب توسط ریشه‌ها، کاهش هدایت آبی در آوندها و اختلال در باز و بسته شدن روزنه‌ها می‌شود. تمام این عوامل در کاهش محتوای نسبی آب برگ نقش دارد. کاهش محتوای نسبی آب برگ در نهایت باعث کاهش تورژسانس، پژمردگی، کاهش فتوسنتز و رشد گیاه خواهد شد (Sattar et al., 2020). ترهالوز نقش مهمی در حفظ آب سلولی و جلوگیری از نشت آن ایفا می‌کند. این ترکیب با تثبیت ساختار غشاهای سلولی و پروتئین‌ها، مانع خروج آب از سلول در شرایط تنش می‌شود. همچنین، ترهالوز از طریق حفظ فشار اسمزی داخلی سلول، توانایی سلول را برای جذب و نگهداری آب بهبود می‌بخشد (Alam et al., 2014). هیدروسولفید سدیم نیز از طریق آزادسازی گاز هیدروژن سولفید موجب افزایش سنتز اسمولیت‌هایی مانند پرولین و قندهای محلول می‌شود. همچنین هیدروژن سولفید با بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، از آسیب به بافت‌های آوندی و روزنه‌ها جلوگیری می‌کند و کارایی سیستم آبی گیاه را حفظ می‌نماید (Naz et al., 2022). اثر هم‌افزایانه ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در تیمار ترکیبی منجر به بیشترین بهبود در محتوای نسبی آب برگ شد، که نشان‌دهنده هم‌پوشانی کارکردهای فیزیولوژیکی این دو ترکیب در حفظ وضعیت آبی برگ در برابر تنش دمایی است.

نتایج این تحقیق همچنین حاکی از آن بود که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش گرمایی افزایش پیدا کرد. آنزیم کاتالاز با تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن مولکولی، منجر به سمیت‌زدایی سلول می‌شود. در این پژوهش تیمار دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به ۲۵ درجه سانتی‌گراد شد. این افزایش، پاسخی طبیعی و دفاعی از سوی گیاه در برابر تنش حرارتی است. چرا که تولید گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط دمای بالا افزایش می‌یابد و گیاه با تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی سعی در خنثی‌سازی این رادیکال‌ها دارد (Habashy et al., 2019). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در شرایط تنش اکسیداتیو ناشی از تنش دمای بالا در فلفل (Hu et al., 2010)، گوجه‌فرنگی (Haque et al., 2021) و خیار (El-Remaly, 2023) نیز گزارش شده است. محققان بیان کردند ترهالوز با تشکیل پیوندهای هیدروژنی با گروه‌های قطبی سطحی آنزیم کاتالاز، ساختار سوم و چهارم این آنزیم را پایدار می‌کند. این حفاظت ساختاری باعث می‌شود آنزیم در برابر تخریب حرارتی مقاوم شود و فعالیت کاتالیتیکی خود را حفظ کند (Alam et al., 2014). هیدروسولفید سدیم نیز با تأثیر بر بیان ژن‌های درگیر در سنتز کاتالاز از جمله CAT1, CAT2, CAT3 در شرایط تنش دمای بالا منجر به افزایش تولید این آنزیم می‌شود (Zhang et al., 2021). آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز از اجزای مهم سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه محسوب شده که با کاهش سطح پراکسید هیدروژن از آسیب به غشاهای سلولی جلوگیری و منجر به افزایش توان دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو می‌شوند (Kumar et al., 2011). نتایج این تحقیق نشان داد که در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، حتی بدون کاربرد ترکیبات خارجی، فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد افزایش یافت. این موضوع بیانگر آن است که گیاه برای مقابله با تجمع گونه‌های فعال اکسیژن، سیستم آنتی‌اکسیدانی خود را تقویت می‌کند. پژوهش‌های پیشین گزارش کردند فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش شدت تنش گرمایی به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد (Hameed et al., 2012). محققان بیان کردند کاربرد ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در شرایط تنش دمای بالا با تحریک بیان ژن‌های مرتبط با آنزیم پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز منجر به افزایش سنتز این آنزیم شد (Min

et al., 2016; Zhao et al., 2019). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با کاتالیز تبدیل سوپراکسید رادیکال به پراکسید هیدروژن و اکسیژن، اولین خط دفاع گیاه در برابر آسیب‌های اکسیداتیو است (Zhao et al., 2019). نتایج حاصل از محلول‌پاشی با ترهالوز، هیدروسولفید سدیم و به ویژه ترکیب این دو ماده نشان داد که این ترکیبات توانستند فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به طور قابل توجهی افزایش دهند. این افزایش فعالیت می‌تواند ناشی از نقش محافظتی ترهالوز در حفظ ساختار پروتئین‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از تنش گرمایی (Luo et al., 2008) و همچنین اثر سیگنال‌دهی هیدروسولفید سدیم در فعال‌سازی ژن‌های مرتبط با پاسخ به تنش گرمایی باشد (Kolupaev et al., 2017).

اسید آسکوربیک یکی از مولکول‌های کلیدی در مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن است که با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، به عنوان یک پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و ساختار پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA را در برابر آسیب محافظت می‌کند (Naz et al., 2022). در تحقیق حاضر محتوای اسید آسکوربیک با افزایش دما افزایش یافت. افزایش سطح اسید آسکوربیک در پاسخ به تنش گرمایی، نشان‌دهنده تلاش گیاه برای حفظ تعادل اکسیداتیو و جلوگیری از تنش اکسیداتیو است که می‌تواند رشد و توسعه گیاه را تحت تاثیر قرار دهد (Alayafi, 2020). نتایج برخی تحقیقات حاکی از تاثیر ترهالوز بر افزایش فعالیت آنزیم ال گالاکتوز فسفریلاز (آنزیم کلیدی در مسیر سنتز اسید آسکوربیک) می‌باشد که منجر به افزایش تولید اسید آسکوربیک می‌گردد (Hassan et al., 2023). هیدروسولفید سدیم از طریق فعال‌سازی مسیر بیوسنتز آسکوربیک اسید و فعال‌سازی سیستم آسکوربات-گلوتاتیون در افزایش تولید این متابولیت ثانویه نقش مهمی ایفا می‌کند (Naz et al., 2022).

آنتوسیانین‌ها به عنوان یکی از گروه‌های فلاونوئیدهای محلول در آب، خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند و قادرند رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن را مهار کنند (Naing & Kim, 2021). بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش افزایش محتوای آنتوسیانین در شرایط تنش گرمایی، یک پاسخ سازگارانه برای کاهش آسیب اکسیداتیو و حفظ سلامت سلول بوده است. پژوهشگران معتقدند کاربرد ترهالوز با فعال‌سازی مسیر بیوسنتز آنتوسیانین از طریق تنظیم فاکتورهای رونویسی آنزیم‌هایی مانند فنیل آلانین آمونیالیز و چالکون سنتاز در شرایط تنش دمای بالا منجر به افزایش تولید آن می‌شود (Alam et al., 2014). از سوی دیگر محققان معتقدند هیدروسولفید سدیم می‌تواند پایداری و فعالیت آنزیم‌های بیوسنتز آنتوسیانین را افزایش دهد (Alvi et al., 2024). افزایش محتوای آنتوسیانین در پاسخ به تنش گرمایی به ویژه در حضور ترهالوز و هیدروسولفید سدیم، نمایانگر پاسخ تطبیقی گیاه به شرایط نامطلوب محیطی است که به حفظ عملکرد فیزیولوژیکی و زیستی آن کمک می‌کند.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد تنش گرمایی رشد رویشی و تولید زیست‌توده گیاهچه فلفل دلمه‌ای کالیفرنیا و اندر را به شدت کاهش داد. همچنین محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز در شرایط تنش دمای بالا کاهش پیدا کرد. تنش دمای بالا منجر به افزایش تولید نشانگرهای تنش اکسیداتیو شد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز به عنوان یک مکانیسم تحمل تنش افزایش پیدا کرد. محلول‌پاشی با ترهالوز و هیدروسولفید سدیم در شرایط تنش دمای بالا از طریق بهبود شاخص‌های رشدی، افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و تجمع متابولیت‌های ثانویه نقش مؤثری در کاهش اثر منفی تنش گرمایی و افزایش تحمل به گرما در گیاهچه‌های فلفل دلمه‌ای کالیفرنیا و اندر داشت.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

منابع

فاتح، مهسا و برزگر، طاهر (۱۳۹۸). تأثیر محلول پاشی اسید نفتالین استیک بر رشد، عملکرد و کیفیت میوه فلفل دلمه‌ای رقم کالیفرنیا و اندر. علوم سبزی‌ها، ۳(۵)، ۱-۱۰.

REFERENCES

- Ahmad, S., Kamran, M., Ding, R., Meng, X., Wang, H., Ahmad, I. & Han, Q. (2019). Exogenous melatonin confers drought stress by promoting plant growth, photosynthetic capacity and antioxidant defense system of maize seedlings. *Peer Journal*, 7, e7793. <https://doi.org/10.7717/peerj.7793>
- Akter, N., & Rafiqul Islam, M. (2017). Heat stress effects and management in wheat. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(37), 1-17. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0443-9>
- Alam, M. M., Nahar, K., Hasanuzzaman, M. & Fujita, M. (2014). Trehalose-induced drought stress tolerance: A comparative study among different *Brassica* species. *Plant Omics*, 7(4), 271-283.
- Alayafi, A. A. M. (2020). Exogenous ascorbic acid induces systemic heat stress tolerance in tomato seedlings: transcriptional regulation mechanism. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(16), 19186-19199. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06195-7>
- Alvi, A. F., Khan, S. & Khan, N. A. (2024). Hydrogen sulfide and ethylene regulate sulfur-mediated stomatal and photosynthetic responses and heat stress acclimation in rice. *Plant Physiology and Biochemistry*, 207, 108437. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108437>
- Al-Zahrani, H. S., Alharby, H. F. & Fahad, S. (2022). Antioxidative defense system, hormones, and metabolite accumulation in different plant parts of two contrasting rice cultivars as influenced by plant growth regulators under heat stress. *Frontiers in Plant Science*, 13, 911846. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.911846>
- Beers, R. F. & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 195(1), 133-140.
- Bello, A. S., Ahmed, T., Saadaoui, I., Ben-Hamadou, R. & Hamdi, H. (2023). Heat-stress-induced changes in enzymatic antioxidant activities and biochemical processes in bell pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 47(6), 1165- <https://doi.org/10.55730/1300-011X.3155>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 3. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Christou, A., Filippou, P., Manganaris, G. A., & Fotopoulos, V. (2014). Sodium hydrosulfide induces systemic thermotolerance to strawberry plants through transcriptional regulation of heat shock proteins and aquaporin. *BMC Plant Biology*, 14(1), 42. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-42>
- Dos Santos, T. B., Ribas, A. F., Souza, S. G. H., Budzinski, I. G. F. & Domingues, D. S. (2022). Physiological responses to drought, salinity, and heat stress in plants: a review. *Stresses*, 2(1), 113-135. <https://doi.org/10.3390/stresses2010009>
- El-Remaly, E. (2023). Morphological, physio-biochemical, and molecular indications of heat stress tolerance in cucumber. *Scientific Reports*, 13(1), 18729. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45163-7>
- Fang, H., Zhang, X., Chen, W., Xu, L., Yao, J., Pei, Y. & Zang, Y. (2024). Dynamic changes of endogenous H₂S generation during responding to developmental and environmental signals in *Solanum lycopersicum* L. *Scientia Horticulturae*, 335, 113346. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113346>
- Gautam, H., Fatma, M., Sehar, Z., Mir, I. R. & Khan, N. A. (2022). Hydrogen sulfide, ethylene, and nitric oxide regulate redox homeostasis and protect photosynthetic metabolism under high temperature stress in rice plants. *Antioxidants*, 11(8), 1478. <https://doi.org/10.3390/antiox11081478>
- Gautam, H., Fatma, M., Sehar, Z., Mir, I. R. & Khan, N. A. (2022). Hydrogen sulfide, ethylene, and nitric oxide regulate redox homeostasis and protect photosynthetic metabolism under high temperature stress in rice plants. *Antioxidants*, 11(8), 1478. <https://doi.org/10.3390/antiox11081478>

- Ghai, N., Kaur, J., Jindal, S. K., Dhaliwal, M. S. & Pahwa, K. (2016). Physiological and biochemical response to higher temperature stress in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Applied and Natural Science*, 8(3), 1133.
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309-314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Gisbert-Mullor, R., Padilla, Y. G., Martínez-Cuenca, M. R., López-Galarza, S. & Calatayud, Á. (2021). Suitable rootstocks can alleviate the effects of heat stress on pepper plants. *Scientia Horticulturae*, 290, 110529. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110529>
- Gratani, L. (1992). A non-destructive method to determine chlorophyll content of leaves. *Photosynthetica*, 26(3), 469-473.
- Habashy, W. S., Milfort, M. C., Rekaya, R., & Aggrey, S. E. (2019). Cellular antioxidant enzyme activity and biomarkers for oxidative stress are affected by heat stress. *International Journal of Biometeorology*, 63, 1569-1584. <https://doi.org/10.1007/s00484-019-01769-z>
- Hameed, A., Goher, M. & Iqbal, N. (2012). Heat stress-induced cell death, changes in antioxidants, lipid peroxidation, and protease activity in wheat leaves. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 283-291. <https://doi.org/10.1007/s00344-011-9238-4>
- Hammerschmidt, R., Nuckles, E. M. & Kuć, J. (1982). Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, 20(1), 73-82. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(82\)90025-X](https://doi.org/10.1016/0048-4059(82)90025-X)
- Haque, M. S., Husna, M. T., Uddin, M. N., Hossain, M. A., Sarwar, A. K. M. G., Ali, O. M. & Hossain, A. (2021). Heat stress at early reproductive stage differentially alters several physiological and biochemical traits of three tomato cultivars. *Horticulturae*, 7(10), 330. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100330>
- Hassan, M. U., Nawaz, M., Shah, A. N., Raza, A., Barbanti, L., Skalicky, M. & Qari, S. H. (2023). Trehalose: a key player in plant growth regulation and tolerance to abiotic stresses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8), 4935-4957. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10851-7>
- Hemantaranjan, A., Malik, C. P. & Bhanu, A. N. (2018). Physiology of heat stress and tolerance mechanisms—an overview. *Journal of Plant Science Research*, 33(1), 55-68.
- Hu, W. H., Xiao, Y. A., Zeng, J. J. & Hu, X. H. (2010). Photosynthesis, respiration and antioxidant enzymes in pepper leaves under drought and heat stresses. *Biologia Plantarum*, 54(3), 761-765. <https://doi.org/10.1007/s10535-010-0137-5>
- Iqbal, N., Umar, S., Khan, N. A. & Corpas, F. J. (2021). Nitric oxide and hydrogen sulfide coordinately reduce glucose sensitivity and decrease oxidative stress via ascorbate-glutathione cycle in heat-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. *Antioxidants*, 10(1), 108. <https://doi.org/10.3390/antiox10010108>
- Kaya, C. & Shabala, S. (2023). Sodium hydrosulfide-mediated upregulation of nitrogen metabolism improves drought stress tolerance in pepper plants. *Environmental and Experimental Botany*, 209, 105305. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105305>
- Kim, M. K., Jeong, H. B., Yu, N., Park, B. M., Chae, W. B., Lee, O. J. & Kim, S. (2023). Comparative heat stress responses of three hot pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes differing temperature sensitivity. *Scientific Reports*, 13(1), 14203. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41418-5>
- Kolupaev, Y. E., Firsova, E. N. & Yastreb, T. O. (2017). Induction of plant cells heat resistance by hydrogen sulfide donor is mediated by H₂O₂ generation with participation of NADPH oxidase and superoxide dismutase. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 1(4), 34-42.
- Kompas, T., Che, T. N. & Grafton, R. Q. (2024). Global impacts of heat and water stress on food production and severe food insecurity. *Scientific Reports*, 14(1), 14398. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-65274-z>
- Korotko, U., Chwiałkowska, K., Sańko-Sawczenko, I. & Kwasniewski, M. (2021). DNA demethylation in response to heat stress in *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1555. <https://doi.org/10.3390/ijms22041555>

- Kumar, R. R., Goswami, S., Kumar, N., Pandey, S. K., Pandey, V. C., Sharma, S. K. & Rai, R. D. (2011). Expression of novel ascorbate peroxidase isoenzymes of wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to heat stress. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 3(11), 188-194.
- Li, X. E., Zhou, H. D. & Li, Z. G. (2024). Metabolic and functional interactions of H₂S and sucrose in maize thermotolerance through redox homeodynamics. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12), 6598. <https://doi.org/10.3390/ijms25126598>
- Li, Z. G. (2013). Hydrogen sulfide: a multifunctional gaseous molecule in plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 60, 733-740. <https://doi.org/10.1134/S1021443713060058>
- Li, Z. G., Gong, M., Xie, H., Yang, L. & Li, J. (2012). Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-induced heat tolerance in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) suspension cultured cells and involvement of Ca²⁺ and calmodulin. *Plant Science*, 185, 185-189. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.10.006>
- Loreto, F. & Velikova, V. (2001). Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology*, 127(4), 1781-1787. <https://doi.org/10.1104/pp.010497>
- Luo, Y., Li, W. M. & Wang, W. (2008). Trehalose: protector of antioxidant enzymes or reactive oxygen species scavenger under heat stress? *Environmental and Experimental Botany*, 63(3), 378-384. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.11.016>
- Luo, Y., Sun, M., Gao, Y., Lang, S. & Wang, Y. (2023). Exogenous trehalose protects photosystem II in heat-stressed wheat. *Botanical Sciences*, 101(1), 186-196. <https://doi.org/10.17129/botsci.3038>
- Mazza, G., Cacace, J. E. & Kay, C. D. (2004). Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids. *Journal of AOAC International*, 87(1), 129-145. <https://doi.org/10.1093/jaoac/87.1.129>
- Min, Y. A. N. G., Ping, W. A. N. G., Mei-ling, L. I., Lu-lu, C. H. E. N., Lei-tai, C. H. E. N., Ai-qing, S. U. N. & Yan-ping, Y. I. N. (2016). Foliar application of sodium hydrosulfide (NaHS), a hydrogen sulfide (H₂S) donor, can protect seedlings against heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 15(12), 2745-2758. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61358-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61358-8)
- Mittler, R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y. & Van Breusegem, F. (2022). Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(10), 663-679. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00499-2>
- Motamedi, M., Haghighi, M. & Goli, A. (2019). Physiological changes of sweet and hot peppers in vegetative and reproductive growth stages treated by Ca and H₂O₂ under unforeseen heat stresses. *Scientia Horticulturae*, 249, 306-313. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.01.040>
- Naher, J., Sabuj, Z. H., Sumona, S. I., Chakraborty, S. P., Hossain, M. R., Rohman, M. M. & Nath, U. K. (2024). Heat stress modulates superoxide and hydrogen peroxide dismutation and starch synthesis during tuber development in potato. *American Journal of Potato Research*, 101(4), 275-289. <https://doi.org/10.1007/s12230-024-09950-w>
- Naing, A. H. & Kim, C. K. (2021). Abiotic stress-induced anthocyanins in plants: Their role in tolerance to abiotic stresses. *Physiologia Plantarum*, 172(3), 1711-1723. <https://doi.org/10.1111/ppl.13373>
- Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Naz, R., Gul, F., Zahoor, S., Nosheen, A., Yasmin, H., Keyani, R. & Roberts, T. H. (2022). Interactive effects of hydrogen sulphide and silicon enhance drought and heat tolerance by modulating hormones, antioxidant defence enzymes and redox status in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Biology*, 24(4), 684-696. <https://doi.org/10.1111/plb.13374>
- Pandey, A. K. & Gautam, A. (2020). Stress responsive gene regulation in relation to hydrogen sulfide in plants under abiotic stress. *Physiologia Plantarum*, 168(2), 511-525. <https://doi.org/10.1111/ppl.13064>
- Pérez-Gálvez, A., Rios, J. J. & Mínguez-Mosquera, M. I. (2005). Thermal degradation products formed from carotenoids during a heat-induced degradation process of paprika oleoresins (*Capsicum annum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 4820-4826. <https://doi.org/10.1021/jf050119x>

- Raza, A., Bhardwaj, S., Rahman, M. A., García-Caparrós, P., Habib, M., Saeed, F. & Varshney, R. K. (2024). Trehalose: A sugar molecule involved in temperature stress management in plants. *The Crop Journal*, 12(1), 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2023.09.010>
- Rehman, H. U., Tariq, A., Ashraf, I., Ahmed, M., Muscolo, A., Basra, S. M. & Reynolds, M. (2021). Evaluation of physiological and morphological traits for improving spring wheat adaptation to terminal heat stress. *Plants*, 10(3), 455. <https://doi.org/10.3390/plants10030455>
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30(1), 105-111. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x>
- Rossi, S. & Huang, B. (2023). Regulatory roles of morphactin on suppressing chlorophyll degradation under heat stress in creeping bentgrass. *Grass Research*, 3(1). <https://doi.org/10.48130/GR-2023-0011>
- Saeed, F., Rasul, S., Batool, S., Zafar, Z.U. & Manzoor, H. (2023). Exogenous applications of salicylic acid alleviate the damaging effects of heat stress in chili (*Capsicum frutescens* L.) through improved antioxidant defense system. *International Journal of Applied and Experimental Biology*, 2(2), 59–68. <https://doi.org/10.56612/ijaeb.v2i1.51>
- Salvucci, M. E., & Crafts-Brandner, S. J. (2004). Mechanism for deactivation of Rubisco under moderate heat stress. *Physiologia Plantarum*, 122(4), 513-519. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2004.00419.x>
- Sattar, A., Sher, A., Ijaz, M., Ul-Allah, S., Rizwan, M. S., Hussain, M. & Cheema, M. A. (2020). Terminal drought and heat stress alter physiological and biochemical attributes in flag leaf of bread wheat. *Plos One*, 15(5), e0232974. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232974>
- Sehar, Z., Gautam, H., Iqbal, N., Alvi, A. F., Jahan, B., Fatma, M. & Khan, N. A. (2022). The functional interplay between ethylene, hydrogen sulfide, and sulfur in plant heat stress tolerance. *Biomolecules*, 12(5), 678. <https://doi.org/10.3390/biom12050678>
- Shafeiee, M. & Ehsanzadeh, P. (2019). Physiological and biochemical mechanisms of salinity tolerance in several fennel genotypes: Existence of clearly-expressed genotypic variations. *Industrial Crops and Products*, 132, 311-318. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.042>
- Utami, D. & Aryanti, E. (2021). Impact of heat stress on germination and seedling growth of chili pepper (*Capsicum annum* L.). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/637/1/012032>
- Wang, H. Liu, Z. Li, J. Luo, S. Zhang, J. & Xie, J. (2022). Hydrogen sulfide interacts with 5-aminolevulinic acid to enhance the antioxidant capacity of pepper (*Capsicum annum* L.) seedlings under chilling stress. *Agronomy*, 12(3), 572. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030572>
- Xia, H., Zhou, Y., Deng, H., Lin, L., Deng, Q., Wang, J. & Liang, D. (2021). Melatonin improves heat tolerance in *Actinidia deliciosa* via carotenoid biosynthesis and heat shock proteins expression. *Physiologia Plantarum*, 172(3), 1582-1593. <https://doi.org/10.1111/ppl.13350>
- Yang, M., Ping, W. A. N. G., Mei-ling, L. I., Lu-lu, C. H. E. N., Lei-tai, C. H. E. N., Ai-qing, S. U. N. & Yan-ping, Y. I. N. (2016). Foliar application of sodium hydrosulfide (NaHS), a hydrogen sulfide (H₂S) donor, can protect seedlings against heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 15(12), 2745-2758. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61358-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61358-8)
- Yogita, K., Madan, S., Rani, B., Reena, K. & Munjal, R. (2015). Trehalose mitigates heat stress-induced damages in wheat seedlings. *Journal of Cereal Research*, 7(1), 12-32.
- Zahra, N., Hafeez, M. B., Ghaffar, A., Kausar, A., Al Zeidi, M., Siddique, K. H. & Farooq, M. (2023). Plant photosynthesis under heat stress: Effects and management. *Environmental and Experimental Botany*, 206, 105178. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105178>
- Zhang, X., Lou, X., Zhang, H., Ren, W. & Tang, M. (2020). Effects of sodium sulfide application on the growth of *Robinia pseudoacacia*, heavy metal immobilization, and soil microbial activity in Pb–Zn polluted soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 197, 110563. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110563>
- Zheng, S., Liu, C., Zhou, Z., Xu, L. & Lai, Z. (2024). Physiological and transcriptome analyses reveal the protective effect of exogenous trehalose in response to heat stress in tea plant (*Camellia sinensis*). *Plants*, 13(10), 1339. <https://doi.org/10.3390/plants13101339>

- Zhou, R., Kong, L., Yu, X., Ottosen, C. O., Zhao, T., Jiang, F. & Wu, Z. (2019). Oxidative damage and antioxidant mechanism in tomatoes responding to drought and heat stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2805-1>
- Zhang, J., Zhou, M., Zhou, H., Zhao, D., Gotor, C., Romero, L. C. & Xie, Y. (2021). Hydrogen sulfide, a signaling molecule in plant stress responses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(1), 146-160. <https://doi.org/10.1111/jipb.13022>.

Extended Abstract

Introduction

Shortly, global warming and heat stress will provide a challenge for crops and vegetables in maintaining their development, growth, reproduction, and yield. Plants are subject to heat stress when: (i) the air temperature is high, and plants receive energy through sensible heat transfer; (ii) solar radiation incident on the soil surface raises the temperature above the air temperature; and (iii) in leaves, substantial heating caused by solar radiation and inability to dissipate heat can result in leaves heating very quickly (up to 15 °C above air temperature), so leaves with low transpiration rates are often subjected to high temperatures. Exposure to thermal stress can cause significant damage to the cell membrane and protein conformation, leading to ROS production and triggering oxidative stress. Trehalose, a non-reducing disaccharide, is essential for metabolic regulation and confers abiotic stress tolerance in a wide range of organisms. Hydrogen sulfide (H₂S) is a signaling molecule involved in defense against heat stress through modulation of biomolecule synthesis, the antioxidant system, and post-translational modifications. California Wonder is one of the oldest varieties of bell pepper and it is known that a Californian breeder made a selection and developed it in 1928. Pepper fruits have important nutritional value and phytochemical sources necessary for human diets such as carbohydrates, proteins and fats. California Wonder pepper is sensitive to heat stress. Also, there is limited knowledge about the physiochemical and biochemical mechanisms by which trehalose and hydrogen sulfide enhance heat tolerance in pepper. Therefore, the purpose of this research was to investigate the effect of trehalose and sodium hydrosulfide on mitigating heat stress in pepper seedlings.

Material and methods

In order to evaluate the influence of trehalose and sodium hydrosulfide on alleviating the adverse effects of high temperature stress in *Capsicum annuum* cv. California Wonder seedlings, an experiment was conducted at the research greenhouse of the Faculty of Agriculture, University of Zabol, using a completely randomized design with three replications. The experimental treatments included the temperature of 25°C (control), the temperature of 40°C (heat stress), foliar application of trehalose (50 mM/L) at the temperature of 40°C, foliar application of sodium hydrosulfide (1 mM/L) at the temperature of 40°C and combined foliar application of trehalose (50 mM/L) and sodium hydrosulfide (1 mM/L) at the temperature of 40°C. The measured traits included plant height, number of leaves, shoot fresh and dry weight, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid contents, relative water content, hydrogen peroxide, malondialdehyde, antioxidant enzyme activity (catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase), ascorbic acid and anthocyanin contents. To analyze the data, SAS software v. 9.4 was used.

Results

The obtained results showed that heat stress significantly reduced the plant height, leaf number, shoot fresh and dry weight of pepper by 1.57, 1.64, 1.91 and 2.66 times compared to the control, respectively. Heat stress also decreased the content of photosynthetic pigments, while utilization of trehalose and sodium hydrosulfide at the temperature of 40°C increased the amount of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids by 1.63, 2.55, and 2.40 times, respectively, compared to untreated plants under heat stress. Oxidative stress indicators increased under heat stress conditions, while the trehalose and sodium hydrosulfide supplementation at the temperature of 40°C reduced H₂O₂ and malondialdehyde contents by 4.35 and 3.00 times compared to untreated plants, respectively. Heat stress also increased the activity of antioxidant enzymes. Catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase activity under the temperature of 40°C and foliar application of trehalose and sodium hydrosulfide increased 1.78, 1.95, 1.78 and 1.78 times compared to the untreated plants, respectively. Moreover, a notable augmentation in secondary metabolites (ascorbic acid and anthocyanin contents) was observed in heat stress conditions. Utilization of trehalose and sodium hydrosulfide at the temperature of 40°C increased the contents of ascorbic acid and anthocyanin by 1.72 and 2.50 times, respectively, compared to the temperature of 40°C.

Conclusion

According to the results, foliar application of trehalose and sodium hydrosulfide effectively alleviated the adverse effects of heat stress in California Wonder pepper seedlings via enhancing growth parameters, photosynthetic pigment content, antioxidant defense system, and the accumulation of secondary metabolites. These findings underscore the importance of trehalose and sodium hydrosulfide in regulating plant resistance mechanisms and suggest that their use as a biostimulant could offer novel strategies for enhancing plant productivity in heat stress conditions.

Data Availability Statement

All data supporting the findings of this study are available within the paper and the datasets from the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Ethical considerations

This article does not contain any studies involving human and animal subjects.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

ویراستاری نشده