

## اثر گاما- آمینوبوتریک اسید در القای مقاومت به سرمازدگی در گیاهچه‌های خیار (*Cucumis sativus* L.)

مهدی صیدی<sup>۱\*</sup>، کیمیا علی‌اکبری<sup>۲</sup>، حدیث حسن‌بیگی<sup>۳</sup> و میثم محمدی<sup>۴\*</sup>

۱- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی مهندسی و علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۴- دانشجوی دکتری گیاهان زینتی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

\* نویسنده‌گان مسئول: m.saidi@ilam.ac.ir; meysammohammadi68@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۰)

### چکیده

به منظور بررسی امکان القای مقاومت و کاهش خسارت سرمازدگی در گیاهچه‌های خیار، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه ایلام در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل غلظت‌های صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار گاما- آمینوبوتریک اسید (گابا) و دو روش کاربرد بذری (پرایمینگ) و محلول‌پاشی برگ در مرحله چهار برگ حقیقی بود. گیاهان تیمار شده برای مدت شش شب در دمای سه درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفته و سپس مورد ارزیابی واقع شدند. نتایج نشان داد که همه‌ی تیمارهای گابا باعث کاهش خسارت سرمازدگی در گیاهچه‌های خیار شدند. اگرچه در اکثر صفات مورد مطالعه بین غلظت‌های مختلف گابا اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی کاربرد بذری گابا در کاهش خسارت ناشی از سرما از محلول‌پاشی برگ کارآمدتر بود. به طوری که کمترین شاخص سرمازدگی، فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز و بیشترین وزن تر شاخساره بدون اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های گابا در کاربرد بذری مشاهده شد. بیشترین وزن خشک شاخساره (۶/۷۷ و ۶/۶۸ گرم در بوته)، شاخص کلروفیل (۲۰/۵۷ و ۲۱/۰۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)، پروتئین کل (۱/۲۹ و ۱/۲۵ گرم در کیلوگرم وزن تر برگ)، پرولین (۲۱/۹۲ و ۲۲/۴۲ میکرومول در گرم وزن تر برگ)، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۱۱۵/۶۷ و ۱۲۶/۹۱ واحد آنزیمی در گرم وزن تر برگ)، پراکسیداز (۰/۶۱ و ۰/۶۳ واحد آنزیمی در گرم وزن تر برگ) و کمترین نشت یونی (۳۰/۲۲ و ۲۹/۷۲ درصد)، مالون‌دی‌آلدئید (۰/۶۵ و ۰/۶۰ میکرومول در گرم وزن تر برگ) و پراکسید هیدروژن (۱/۲۷ و ۱/۱۹ میکرومول در گرم وزن تر برگ) به ترتیب در غلظت‌های ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار گابا در روش کاربرد بذری مشاهده شد. بنابراین استفاده از روش پرایمینگ بذر با غلظت ۱۰ میلی‌مولار گابا به‌عنوان روشی کاربردی در جهت کاهش خسارت سرمازدگی گیاهچه‌های خیار پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، سرمازدگی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، گابا.

### مقدمه

بومی مناطق هیمالیا و هند است که ارزش تغذیه‌ای آن به دلیل کالری پایین، ویتامین‌های C، B<sub>1</sub> و مواد معدنی است (Kumar et al., 2010). خیار یکی از

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. یکی از سبزی‌های مهم تیره کدوئیان (Cucurbitaceae) و

شرایط روزنه‌ها بسته شده و کاهش تعرق سبب افت هدایت هیدرولیکی ریشه می‌شود و در نتیجه تنش آبی ناشی از سرمازدگی تشدید می‌گردد. در این شرایط همچنین انرژی متابولیسی کمتری در دسترس گیاه قرار می‌گیرد و علاوه بر کاهش جذب آب، جذب عناصر غذایی نیز محدود می‌شود، در ادامه آسیمیلایون گیاه کاهش یافته و رشد متوقف می‌گردد ( Saydpour et al., 2015; Yadav et al., 2010).

تولید گونه‌های اکسیژن فعال در کلروپلاست و میتوکندری نیز یکی دیگر از مهم‌ترین تغییرات بیوشیمیایی در گیاهان تحت شرایط تنش سرمایی است (Bahadoori et al., 2017). گیاهان برای مقابله با تنش‌های محیطی مکانیسم‌های دفاعی مختلفی از جمله تولید ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی شامل اسیدآمینو پرولین، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و برخی یون‌های معدنی را جهت مقابله به کار می‌گیرند. این ترکیبات در غلظت‌های بالا غیرسمی بوده و بدون تغییر در pH سلولی باعث حفظ فشار اسمزی و همچنین تثبیت ساختار پروتئین و غشای سلولی تحت تنش می‌شوند و در نتیجه نقش مهمی در سازگاری سلول‌ها به تنش محیطی دارند ( Bahadoori et al., 2017; Saydpour et al., 2015).

امروزه تیمار بذر و گیاهان قبل از کاشت و یا در مزرعه توسط انواع ترکیبات شیمیایی و غیرشیمیایی از روش‌های معمول جهت القای مقاومت به تنش‌ها در گیاهان می‌باشد ( Malekzadeh et al., 2012; Saydpour et al., 2015). گابا یک اسیدآمینوی غیرپروتئینی و دارای چهار اتم کربن است که به‌طور گسترده در بیشتر موجودات پروکاریوت و یوکاریوت وجود دارد. گابا در گیاهان عمدتاً به‌عنوان یک متابولیت همانند پرولین مورد بررسی قرار گرفته است و به‌نظر می‌رسد بر چرخه اسید

پر مصرف‌ترین سبزیجات کشت شده در ایران است. خیار جزء سبزی‌های فصل گرم می‌باشد که نسبت به سرما حساس بوده به‌طوری‌که در دمای زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد دچار سرمازدگی می‌شود (Saydpour et al., 2015).

تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل کاهش راندمان تولید در محصولات کشاورزی می‌باشند. خسارت سرمازدگی ناشی از سرمای دیررس بهاره یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی در مناطق معتدله است که هر ساله باعث ضرر فراوانی به کشاورزان به‌دلیل خسارت به محصولات حساس به سرما از جمله خیار می‌شود. در گیاهان بومی مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری آسیب ناشی از دماهای پایین به‌دلیل سرمازدگی نابسامانی‌های فیزیولوژیکی پیچیده‌ای را در گیاهان به‌وجود می‌آورد که منجر به ضایعات اقتصادی فراوانی می‌شود (Saydpour et al., 2015). زمانی‌که گیاهان حساس به سرما در معرض دمای پایین قرار می‌گیرند، یک‌سری واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از قبیل عدم یکنواختی در رسیدن محصول، فرورفتگی‌های سطحی برگ یا میوه، بی‌رنگ شدن محصول، از دست‌دادن آب و افزایش سرعت تنفس رخ می‌دهد که در نهایت سبب کاهش کیفیت محصول و حتی از بین رفتن آن می‌شود (Luengwilai et al., 2012).

سرما فعالیت غشاهای سلولی را به‌عنوان اولین جایگاه خسارت تحت تأثیر قرار می‌دهد و از دست دادن نفوذپذیری غشا و نشت یونی از اولین خسارت‌های ناشی از تنش سرما در گیاهان است (Yadav et al., 2010). در زمان مواجه شدن ریشه و اندام هوایی گیاهان حساس با تنش سرما، گیاه دچار تنش آبی می‌شود که به‌وسیله کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه آغاز و با کاهش شدید در پتانسیل آب و آماس برگ ادامه می‌یابد. در این

محتوای پرولین را افزایش داد (Wang et al., 2014). همچنین تیمار گابا در گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* Mill.) تحت تنش شوری باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشاء سلولی، کلروفیل، کاروتنوئید، پرولین و همچنین حفظ فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد شد (Zarei et al., 2016). استفاده از تیمار محلول پاشی متیل جاسمونات به‌ویژه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سبب افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین برگ و کاهش شاخص سرمازدگی، محتوای نسبی آب برگ و نشت یونی در دانه‌های خیار (*Cucumis sativus* L.) تحت تنش سرما نسبت به شاهد شد (Bazi et al., 2015). تیمار گلایسین بتائین نیز سرمازدگی گیاهچه‌های خیار را کاهش و سبب بهبود شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه در شرایط تنش نسبت به گیاهان شاهد شد (Saydpour et al., 2015).

بنابراین با توجه به مطالب فوق در پژوهش حاضر در راستای کاهش خسارت سرمازدگی در گیاهچه‌های خیار، اثر غلظت‌های مختلف گابا به‌صورت کاربرد پرایمینگ بذر و محلول پاشی در مرحله چهار برگ حقیقی مورد مطالعه قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در دانشگاه ایلام در سال ۱۳۹۷ در شرایط گلخانه‌ای و به‌صورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد که در هر تکرار ۱۰ گلدان مورد بررسی قرار گرفت. فاکتور اول شامل چهار غلظت (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار گابا) و فاکتور دوم دو روش کاربرد گابا به‌صورت پرایمینگ بذر یا محلول پاشی در مرحله چهار برگ حقیقی بود. در تیمار پرایمینگ بذرها برای مدت پنج ساعت

تری‌کربوکسیلیک و تعادل کربن به نیتروژن نقش داشته باشد (Wang et al., 2014). گابا به‌عنوان یک سیگنال در پاسخ به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد و از طریق افزایش فعالیت پرولین-۵- کربوکسیلات و سرکوب کردن فعالیت پیرووات دهیدروژناز منجر به تجمع پرولین در گیاه، حفظ ساختار سلول و در نتیجه کاهش خسارت تنش می‌شود (Wang et al., 2014; Soleimani-Aghdam et al., 2015). گابا اغلب در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی شامل خشکی، شوری، تنش دمایی و عوامل بیماری‌زا به سرعت در گیاهان تجمع می‌یابد که به‌عنوان یک سیگنال مولکولی خارجی نقش مهمی در تنظیم پاسخ به تنش، رشد و توسعه گیاه دارد (Zarei et al., 2016).

Soleimani-Aghdam و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهشی تأثیر تیمار گابا بر مقاومت به سرمازدگی و افزایش تجمع پرولین در گل‌های شاخه بریده آنتوریوم (*Anthurium schzerianum* Schott.) در دمای چهار درجه سانتی‌گراد را گزارش کردند. همچنین فعالیت آنزیم‌های فسفولیپاز و لیپوکسیژناز در گل‌های شاخه بریده آنتوریوم تیمار شده با گابا در طول نگهداری در انبار سرد منجر به حفظ نسبت بالای اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع گردید (Soleimani-Aghdam et al., 2016; Wang et al., 2014). کاربرد گابا در گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) به‌میزان قابل توجهی از مهار رشد طولی ریشه گیاهچه‌های گندم تحت تنش سرما جلوگیری کرده و محتوای مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داد (Malekzadeh et al., 2012). در گزارشی دیگر پیش‌تیمار میوه موز (*Musa sapientum* L.) با گابا قبل از انبارداری باعث کاهش شاخص سرمازدگی، نشت یونی و محتوای مالون‌دی‌آلدئید شده و فنول کل و

ضعیف: نواحی کوچک نکروزه روی برگ‌ها (کمتر از ۱۵ درصد سطح برگ‌ها نکروزه شدند)، نمره چهار ملایم: نواحی نکروزه مشخص روی شاخه‌ها (تا ۳۰ درصد از سطح برگ‌ها نکروزه شدند)، نمره پنج شدید: نواحی نکروزه شدید همراه با کاهش رشد شدید (بیش از ۵۰ درصد برگ‌ها نکروزه شدند ولی هنوز گیاه زنده است). در رابطه زیر CI درجه سرمازدگی، nCI عدد سرمازدگی، NCI تعداد گیاهان دارای علامت سرمازدگی و NT تعداد کل گیاهان در هر واحد آزمایشی را نشان می‌دهد (Yang *et al.*, 2011).

$$CI = \sum \frac{(nCI \times NCI)}{NT} \quad \text{رابطه (۱)}$$

برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک شاخساره از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم (Acculab مدل ALC 150.3 ساخت آمریکا) استفاده شد (Saydpour *et al.*, 2015). برای اندازه‌گیری کلروفیل کل از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. برای اندازه‌گیری نشت یونی از روش Ben Hamed و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد.

برای تعیین میزان پراکسیده شدن لیپیدها از غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به‌عنوان محصول واکنش پراکسیده شدن اسیدهای چرب به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده شد. اندازه‌گیری محتوای پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. مقدار پراکسید هیدروژن بر اساس واکنش پراکسید هیدروژن با یدید پتاسیم (KI) بر اساس روش پیشنهادی Alexieva و همکاران (۲۰۰۱) و محتوای پروتئین کل با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی محاسبه گردید (Bradford, 1976). سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس اندازه‌گیری تجزیه پراکسید هیدروژن و کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت (Dhindsa *et al.*, )

در غلظت‌های مذکور خیسانده شدند و سپس در گلدان‌های سایز هشت کشت شدند (خاک گلدان‌ها مخلوطی یکنواخت از نسبت‌های مساوی خاک زراعی، کود دامی و ماسه بود).

برای تیمار محلول‌پاشی بذرهای خیار رقم Super Dominus همزمان با تیمارهای پرایمینگ در آب مقطر برای مدت پنج ساعت خیسانده شدند و سپس کشت شدند که پس از رشد و رسیدن گیاهان به مرحله چهار برگ حقیقی تیمار محلول‌پاشی با غلظت‌های مذکور توسط آبیاری دستی انجام شد و ۴۸ ساعت بعد از آن همه گیاهان تحت تنش سرمایی قرار گرفتند. جهت شباهت‌سازی با شرایط طبیعی اعمال تنش سرمایی در شب و در دمای سه درجه سانتی‌گراد برای مدت شش شب و هر شب شش ساعت (ساعت‌های ۱۲ شب الی شش صبح) در داخل انکوباتور قرار گرفتند و هر روز پس از تنش سرما در شرایط نور طبیعی و دمای ۱۵ الی ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفتند و در صورت نیاز آبیاری نیز انجام می‌گرفت. صفات مختلف ۲۴ ساعت پس از پایان تنش سرمایی (روز هفتم) مورد بررسی قرار گرفتند (Saydpour *et al.*, 2015).

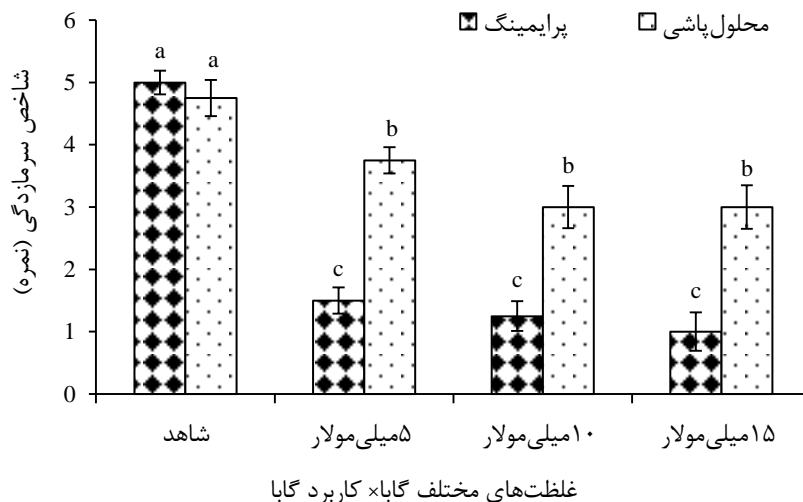
### ارزیابی صفات

شاخص سرمازدگی به‌صورت کیفی و بر اساس پژمرده‌شدن، از دست‌دادن آب و نکروزه‌شدن برگ‌ها و شاخه‌ها ارزیابی شد. بدین منظور گیاهان بر اساس میزان علائم سرمازدگی به‌صورت زیر از نمره یک تا پنج درجه‌بندی شدند و میزان سرمازدگی بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد. در نهایت میانگین خسارت برای هر تیمار بر حسب نمره محاسبه گردید. نمره یک نرمال: هیچ علائمی از سرمازدگی مشاهده نشد، نمره دو خیلی ضعیف: نواحی کوچک نکروزه روی شاخه‌ها ولی بدون محدودیت رشد (کمتر از پنج درصد سطح برگ‌ها نکروزه می‌شود)، نمره سه

## نتایج

### شاخص سرمازدگی، وزن تر، وزن خشک شاخساره و غلظت کلروفیل کل

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که شاخص سرمازدگی در تیمارهای پرایمینگ کمتر از تیمارهای محلول‌پاشی بود و در هر دو روش کاربرد نیز بین غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. همچنین نمونه‌های شاهد در هر دو روش کاربرد محلول‌پاشی و پرایمینگ بذر دارای بیشترین میزان شاخص سرمازدگی نسبت به تیمارها بودند (شکل ۱).



شکل ۱- اثر پرایمینگ بذر و محلول‌پاشی گابا بر شاخص سرمازدگی در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمای میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون توکی فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

روش کاربرد برای وزن خشک شاخساره نشان داد که بیشترین وزن خشک در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار در روش کاربرد پرایمینگ بذر مشاهده شد و پس از آنها تیمار پنج میلی‌مولار پرایمینگ بذر قرار داشت. کمترین وزن خشک شاخساره در گیاهچه‌های خیار مربوط به نمونه‌های شاهد بود هر چند اختلاف آن با تیمار پنج میلی‌مولار محلول‌پاشی معنی‌دار نبود (شکل ۲ ب).

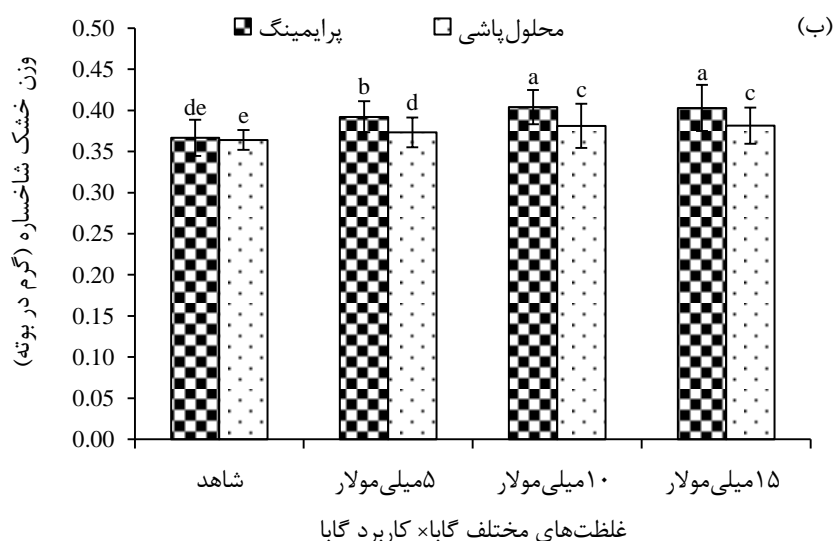
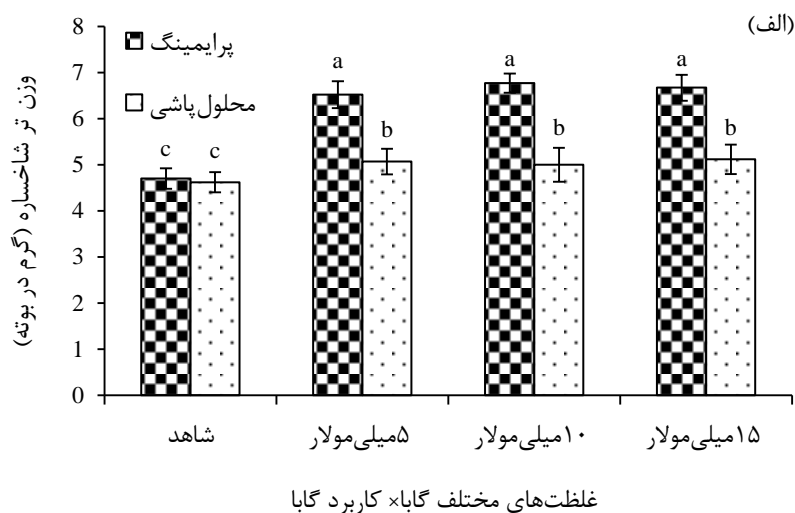
۱۹۸۱). برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز میزان فعالیت گایاکل پراکسیداز با استفاده از پیش‌ماده گایاکول اندازه‌گیری گردید (Plewa et al., ۱۹۹۱). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز از روش پیشنهادی Axelroad و همکاران (۱۹۸۱) استفاده شد.

### تجزیه آماری

داده‌ها پس از بررسی نرمال‌بودن توسط نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۲) تجزیه شده و برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای توکی در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

کمترین وزن تر شاخساره در نمونه‌های شاهد مشاهده شد و بیشترین مقدار وزن تر شاخساره مربوط به تیمارهای پرایمینگ بذر (بدون اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) بود و پس از آن تیمارهای محلول‌پاشی بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر قرار داشتند (شکل ۲ الف).

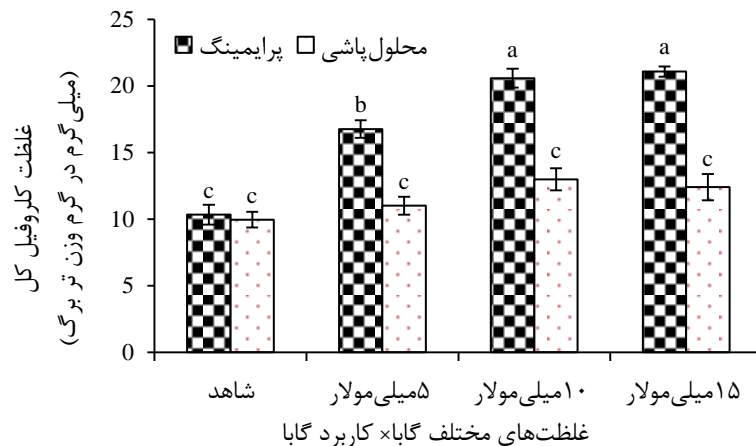
نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها و



شکل ۲- اثر پرایمینگ بذر و محلول پاشی گابا بر وزن تر (الف) و خشک (ب) شاخساره در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد براساس آزمون توکی فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

همچنین بین تیمارهای محلول پاشی و شاهد از نظر مقدار کلروفیل کل برگ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین غلظت کلروفیل در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ میلی مولار پرایمینگ بذر (بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر) و سپس در تیمار پنج میلی مولار پرایمینگ مشاهده گردید (شکل ۳).



شکل ۳- اثر پرایمینگ بذر و محلول‌پاشی گابا بر مقدار کلروفیل کل در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون توکی فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

کاربرد پرایمینگ بذر مشاهده گردید و پس از آن تیمار پنج میلی‌مولار پرایمینگ قرار داشت. همچنین کمترین محتوای پروتئین در نمونه‌های شاهد مشاهده گردید و تیمارهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر دارای محتوای پروتئین بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد و کمتر از تیمارهای پرایمینگ بودند (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار و روش کاربرد نشان داد که محتوای پروتئین کل در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های شاهد بود و در تیمارهای پرایمینگ بیشتر از تیمارهای محلول‌پاشی بود، به‌طوری‌که بیشترین محتوای پروتئین کل در تیمارهای گابا ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار پرایمینگ (بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر) مشاهده شد و بعد از آنها تیمار پنج میلی‌مولار پرایمینگ دارای محتوای پروتئین کل بیشتری نسبت به سایر تیمارها بودند. همچنین تیمارهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار پرایمینگ اگرچه با همدیگر فاقد اختلاف معنی‌دار بودند ولی همچنان دارای محتوای پروتئین کل بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد و کمتر از تیمارهای پرایمینگ بودند (جدول ۱).

### نشت یونی، محتوای مالون‌دی‌آلدهید، پروتئین و پروتئین کل

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که مقدار نشت یونی در تیمارهای پرایمینگ کمتر از تیمارهای محلول‌پاشی بود، به‌طوری‌که کمترین مقدار نشت یونی در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار گابا در بذرهای پرایمینگ شده مشاهده شد. همچنین بیشترین نشت یونی در نمونه‌های شاهد و سپس در تیمار پنج میلی‌مولار محلول‌پاشی گابا قرار داشت (جدول ۱).

در این پژوهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا تحت تنش سرما مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که محتوای مالون‌دی‌آلدهید در تیمارهای محلول‌پاشی بیشتر از تیمارهای پرایمینگ بذر بود، به‌طوری‌که بیشترین محتوای مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های شاهد و کمترین آن در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار پرایمینگ بذر (بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر) مشاهده گردید (جدول ۱).

مشاهده نتایج جدول ۱ نشان داد که محتوای پروتئین در تیمارهای پرایمینگ بیشتر از تیمارهای محلول‌پاشی بود. به‌طوری‌که بیشترین محتوای پروتئین در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار گابا در

جدول ۱- اثر پرایمینگ بذر و محلول پاشی گابا بر نشت یونی، محتوای مالون دی آلدئید، پرولین و پروتئین کل در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی

کاربرد گابا	غلظت گابا (میلی مولار)	نشت یونی (درصد)	مالون دی آلدئید (میکرومول در گرم وزن تر برگ)	غلظت پرولین (میکرومول در گرم وزن تر برگ)	پروتئین کل (گرم در کیلوگرم وزن تر برگ)
	۰ (شاهد)	۵۸/۹۱ <sup>a</sup>	۱/۲۳ <sup>a</sup>	۱۴/۷۵ <sup>d</sup>	۰/۷۷ <sup>d</sup>
پرایمینگ	۵	۳۵/۵۸ <sup>d</sup>	۰/۸۰ <sup>d</sup>	۱۹/۶۳ <sup>b</sup>	۱/۱۵ <sup>b</sup>
	۱۰	۳۰/۲۲ <sup>c</sup>	۰/۶۵ <sup>e</sup>	۲۱/۹۲ <sup>a</sup>	۱/۲۹ <sup>a</sup>
	۱۵	۲۹/۷۲ <sup>e</sup>	۰/۶۰ <sup>e</sup>	۲۲/۴۲ <sup>a</sup>	۱/۲۵ <sup>a</sup>
	۰ (شاهد)	۵۹/۶۷ <sup>a</sup>	۱/۲۲ <sup>a</sup>	۱۴/۶۲ <sup>d</sup>	۰/۷۵ <sup>d</sup>
محلول پاشی	۵	۵۱/۶۵ <sup>b</sup>	۱/۱۰ <sup>b</sup>	۱۵/۹۱ <sup>c</sup>	۱/۰۹ <sup>c</sup>
	۱۰	۴۴/۷۰ <sup>c</sup>	۰/۹۸ <sup>c</sup>	۱۶/۳۵ <sup>c</sup>	۱/۰۵ <sup>c</sup>
	۱۵	۴۲/۷۲ <sup>c</sup>	۰/۹۴ <sup>c</sup>	۱۶/۴۴ <sup>c</sup>	۱/۱۰ <sup>c</sup>

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون توکی تفاوت معنی‌دار ندارند.

#### محتوای پراکسید هیدروژن و فعالیت

#### آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و لیپواکسیژناز

نتایج مربوط به مطالعه پراکسید هیدروژن نشان داد که محتوای پراکسید هیدروژن در همه تیمارها کمتر از نمونه‌های شاهد بود و در تیمارهای پرایمینگ کمتر از تیمارهای محلول پاشی بود. نتایج نشان داد کمترین محتوای پراکسید هیدروژن مربوط به تیمارهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار پرایمینگ بود و پس از آنها تیمار پنج میلی‌مولار پرایمینگ دارای محتوای پراکسید هیدروژن کمتری نسبت به نمونه‌های شاهد بود. همچنین بین تیمارهای محلول پاشی با همدیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ولی دارای محتوای پراکسید هیدروژن کمتری نسبت به نمونه‌های شاهد بودند (جدول ۲).

کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌های شاهد مشاهده شد هر چند که با تیمارهای پنج و ۱۰ میلی‌مولار محلول پاشی فاقد اختلاف معنی‌داری بودند. همچنین بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای ۱۵ و ۱۰ میلی‌مولار پرایمینگ (بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر) مشاهده شد. همچنین

در مرتبه بعدی تیمار پنج میلی‌مولار پرایمینگ دارای فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتری نسبت به سایر تیمارها بود هر چند که اختلاف آن با تیمارهای ۱۵ و ۱۰ میلی‌مولار محلول پاشی معنی‌دار نبود (جدول ۲).

نتایج فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز نشان داد که همانند نتایج آنزیم کاتالاز کمترین فعالیت این آنزیم مربوط به نمونه‌های شاهد بود و بیشترین آن نیز در تیمارهای ۱۵ و ۱۰ میلی‌مولار پرایمینگ مشاهده گردید. در مرتبه بعدی تیمارهای پنج میلی‌مولار پرایمینگ و ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار محلول پاشی بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر دارای فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد بودند. همچنین بین نمونه‌های شاهد و تیمار پنج میلی‌مولار محلول پاشی نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۲).

نتایج مربوط به فعالیت لیپواکسیژناز نیز نشان داد که بیشترین فعالیت این آنزیم در نمونه‌های شاهد مشاهده شد هر چند که با تیمار پنج میلی‌مولار محلول پاشی فاقد اختلاف معنی‌دار بودند.



کمترین فعالیت این آنزیم مربوط به تیمارهای ۱۵ و ۱۰ میلی مولار پرایمینگ بود و پس از آنها تیمارهای پنج میلی مولار پرایمینگ و ۱۵ و ۱۰ میلی مولار محلول پاشی بدون اختلاف معنی دار با همدیگر دارای فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز کمتری نسبت به نمونه‌های شاهد بودند (جدول ۲).

جدول ۲- اثر پرایمینگ بذر و محلول پاشی گابا بر محتوای پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و لیپواکسیژناز در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی

کاربرد گابا	غلظت گابا (میلی مولار)	محتوای پراکسید هیدروژن (میکرومول در گرم وزن تر برگ)	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد آنزیمی در گرم وزن تر برگ)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی در گرم وزن تر برگ)	فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز (واحد آنزیمی در گرم وزن تر برگ)
پرایمینگ	۰ (شاهد)	۲/۶۳ <sup>a</sup>	۶۴/۰۵ <sup>cd</sup>	۰/۲۹ <sup>e</sup>	۱۱/۶۲ <sup>a</sup>
	۵	۱/۸۶ <sup>c</sup>	۸۶/۹۰ <sup>b</sup>	۰/۵۵ <sup>b</sup>	۵/۷۷ <sup>bc</sup>
	۱۰	۱/۲۷ <sup>d</sup>	۱۱۵/۶۷ <sup>a</sup>	۰/۶۱ <sup>ab</sup>	۴/۷۶ <sup>c</sup>
محلول پاشی	۱۵	۱/۱۹ <sup>d</sup>	۱۲۶/۹۰ <sup>a</sup>	۰/۶۳ <sup>a</sup>	۴/۳۷ <sup>c</sup>
	۰ (شاهد)	۲/۶۵ <sup>a</sup>	۶۳/۱۰ <sup>d</sup>	۰/۳۱ <sup>de</sup>	۱۲/۰۷ <sup>a</sup>
	۵	۲/۳۱ <sup>b</sup>	۶۹/۱۲ <sup>cd</sup>	۰/۳۷ <sup>cd</sup>	۱۰/۶۲ <sup>a</sup>
	۱۰	۲/۲۳ <sup>b</sup>	۷۵/۶۷ <sup>bcd</sup>	۰/۴۱ <sup>c</sup>	۷/۹۲ <sup>b</sup>
	۱۵	۲/۱۷ <sup>b</sup>	۷۹/۴۵ <sup>bc</sup>	۰/۳۹ <sup>c</sup>	۸/۰۳ <sup>b</sup>

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون توکی تفاوت معنی‌دار ندارند.

## بحث

طریق افزایش فعالیت پرولین -۵- کربوکسیلات و سرکوب کردن فعالیت پیرووات دهیدروژناز، منجر به تجمع پرولین در گیاه می‌شود (Mirzaei Mashhod *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2014). از آنجا که پرولین یکی از حساس‌ترین اسمولیت‌های افزایش تحمل به تنش می‌باشد، تجمع پرولین در هنگام تنش باعث حفظ ساختار سلولی و جلوگیری از آسیب‌های سلولی خواهد شد (Wang *et al.*, 2014). افزایش میزان پرولین با کاربرد تیمار گابا در گل‌های آنتوریوم تحت تنش انبار سرد گزارش شده است (Soleimani-Aghdam *et al.*, 2015) که نتایج پژوهش حاضر با این نتایج مطابقت دارد.

کاهش رشد گیاه به‌ویژه رشد بخش هوایی و کاهش وزن تر و خشک شاخساره می‌تواند نتیجه اثر

با توجه به نتایج حاضر کاربرد گابا به صورت پرایمینگ بذر بهتر از کاربرد محلول پاشی باعث کاهش شاخص سرمازدگی در گیاهچه‌های خیار شد. احتمالاً یکی از دلایل القای مقاومت به سرمازدگی در این تیمارها ناشی از تجمع پرولین و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان در شرایط تنش باشد، چرا که تیمارهایی که دارای سرمازدگی کمتری بودند از محتوای پرولین، پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بیشتری برخوردار و محتوای مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی در آنها کمتر بود. مشاهدات نشان می‌دهد یکی از پاسخ‌های شناخته شده گیاهان به تنش‌های مختلف محیطی تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند اسید آمینه پرولین، بتائین، گلیسین و قندهای الکلی است (Aki *et al.*, 2016). گابا از

*meLO L.* تحت شرایط تنش شوری توسط تیمار گابا گزارش شده است (Hu *et al.*, 2015).  
 اکسیداسیون لیپیدها و افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدهید نیز می‌تواند به علت تولید گونه‌های اکسیژن فعال و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌هایی نظیر لیپواکسیژناز و فسفولیپاز D باشد (Promyou *et al.*, 2012). این دو آنزیم آغازگر تجزیه غشای سلولی در طول پیری و تنش سرمازدگی می‌باشند، به طوری که فسفولیپاز D مهم‌ترین آنزیم در هیدرولیز فسفولیپیدهای غشا می‌باشد و لیپواکسیژناز پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی را افزایش داده و سیالیت غشا را تغییر می‌دهد که تأثیر مستقیم بر انسجام و نفوذپذیری غشای سلولی دارد (Soleimani-Aghdam *et al.*, 2015). همچنین در شرایط سرما به دلیل فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال و خسارت غشای سلولی، تراوایی غشای سلولی و نشت الکترولیت‌ها افزایش می‌یابد (Kubis *et al.*, 2014). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تیمارهایی که دارای محتوای پراکسید هیدروژن بیشتری بودند، از محتوای مالون‌دی‌آلدهید و نشت یونی بیشتری نیز برخوردار و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز نیز در آنها بیشتر بود. همچنین تغییر در بیان، تجمع و سنتز پروتئین در پاسخ به تنش‌های محیطی از مکانیسم‌های مهم گیاهان در جهت حفاظت از متابولیسم سلولی و ایجاد سازگاری محسوب می‌شود، به طوری که شکستن پروتئین‌ها باعث آزاد شدن پرولین و کاهش خسارت تنش می‌شود (Heidarvand *et al.*, 2010). در پژوهش حاضر تحریک تولید پرولین توسط تیمارهای گابا میزان تخریب پروتئین‌ها را طی دوره تنش کاهش و باعث حفظ آنها در شرایط سرما شد. همچنین افزایش میزان پروتئین کل در گیاهچه‌های تیمار شده با گابا می‌تواند مربوط به نقش سیگنالی آن در

منفی تنش سرما، کاهش فتوسنتز و در نتیجه کمبود کربوهیدرات‌ها برای رشد گیاه باشد (Bahadoori *et al.*, 2017). گزارش شده است که تخریب کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل یکی از مهم‌ترین اثرات تنش‌های محیطی در گیاهان می‌باشد که بخشی از کاهش میزان کلروفیل می‌تواند به دلیل عدم تولید کلروفیل و همچنین تخریب کلروفیل‌های موجود در شرایط تنش به دلیل فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد (Bazl *et al.*, 2015; Bahadoori *et al.*, 2017). در پژوهش حاضر بهبود شاخص کلروفیل در تیمارها نسبت به نمونه‌های شاهد می‌تواند یکی از دلایل حفظ فرآیند فتوسنتز و به دنبال آن افزایش رشد، وزن تر و خشک شاخساره‌ها در تیمارهای مورد مطالعه باشد. در پژوهشی مشابه پرایمینگ بذر گیاه فلفل سیاه (*Piper nigrum L.*) با گابا فعالیت‌های فتوسیستم I و II را به طور معنی‌داری افزایش داد (Vijayakumari & Puthur, 2016). همچنین کاربرد خارجی گابا در گیاه گوجه‌فرنگی عملکرد دستگاه فتوسنتزی را بهبود بخشید و بیوسنتز کلروفیل را افزایش داد (Luo *et al.*, 2011). افزایش محتوای کلروفیل کل در گل شاخه بریده رز (*Rosa hybrida*) با به کار بردن تیمار گابا گزارش شده است (Mirzaei Mashhod *et al.*, 2016). احتمالاً تیمارهای گابا با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای پرولین باعث کاهش فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال و افزایش محافظت از کلروفیل در پژوهش حاضر شده‌اند. کاربرد خارجی گابا در گیاه کدو (*Cucurbita spp.*) باعث افزایش رشد رویشی و نیز افزایش عملکرد این گیاه با تأثیر بر فعالیت هورمون‌ها و افزایش تقسیم سلولی و طول شدن سلول‌ها شد (Ali *et al.*, 2010). همچنین مشابه نتایج حاضر افزایش وزن تر و خشک گیاه خربزه (*Cucumis*)

در آنها بیشتر بود، دارای محتوای پراکسید هیدروژن بیشتر و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز کمتری بودند. در مطالعه‌ای بر روی گیاهچه‌های ذرت مشخص شد که افزایش فعالیت کاتالاز نقش مهمی در تحمل به تنش سرما و کاهش خسارت اکسیداتیو دارد (Farooq *et al.*, 2008). نتایج یک پژوهش نشان داد که تیمار دو میلی‌مولار گابا در فلفل سیاه باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد (Vijayakumari & Puthur, 2016). کاربرد خارجی ۵۰ میلی‌مولار گابا باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه چچم چندساله (*Lolium temulentum* L.) تحت تنش خشکی شد (Krishnan *et al.*, 2013). همچنین کاربرد گابا در بوته‌های گندم نیز تحت تنش سرما فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی را تغییر داد و آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش سرمایی را کاهش داد (Malekzadeh *et al.*, 2012).

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد در شرایط تنش سرما میزان خسارت سرمازدگی در گیاهچه‌های خیار افزایش یافت ولی تیمارهای گابا به‌خوبی باعث کاهش خسارت سرمازدگی و بهبود شاخص‌های مورد مطالعه شدند. در این پژوهش اگرچه بین غلظت‌های مختلف گابا در اکثر صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی کاربرد بذری (پرایمینگ) بهتر از کاربرد محلول‌پاشی باعث کاهش خسارت سرمازدگی شد. بنابراین جهت کاهش هزینه‌های تولید استفاده از روش پرایمینگ بذر با غلظت ۵ یا ۱۰ میلی‌مولار گابا به‌عنوان برنامه‌ای کاربردی در جهت کاهش خسارت سرمازدگی در فرآیند تولید محصول خیار پیشنهاد می‌گردد.

تجمع نیتروژن و نقش ساختاری نیتروژن در پروتئین باشد (Shelp *et al.*, 2012). در پژوهش حاضر محتوای پروتئین در تیمارهای پرایمینگ بیشتر از محلول‌پاشی بود. Farooq و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی نشان دادند که بذرها پرایمینگ شده ذرت (*Zea mays* L.) توسط گابا دارای سنتز پروتئین، DNA و RNA بیشتری بودند. همچنین تیمار گابا بر روی ذرت نشان داد که هدایت روزنه‌ای و سرعت تعرق در گیاهان تیمار شده بهبود یافت و تجمع پروتئین، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های دخیل در متابولیسم نیتروژن افزایش یافت (Li *et al.*, 2016).

زمانی که بافت‌های گیاه در معرض سرما قرار می‌گیرند تولید گونه‌های اکسیژن فعال در آنها افزایش می‌یابد. این مولکول‌ها می‌تواند باعث تخریب پروتئین‌ها و اسید نوکلئیک‌های سلول‌های گیاهی و در نهایت غشاهای زیستی شوند. سلول‌های گیاهی برای کاهش اثرات تخریبی این مولکول‌ها، فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی خود را از جمله آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهند (Kafi *et al.*, 2018). دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند که باعث شکسته‌شدن پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌گردند (Bahadoori *et al.*, 2017). در شرایط تنش سرما افزایش گونه‌های اکسیژن فعال باعث مصرف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاه در جهت تعدیل خسارت تنش می‌شود (Li *et al.*, 2016). گابا می‌تواند در مهار گونه‌های اکسیژن فعال برای محافظت از غشا نقش داشته باشد که علت آن می‌تواند ناشی از فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد (Zarei *et al.*, 2016). در پژوهش حاضر نیز تیمارهایی که شاخص سرمازدگی

## References

- Aki, F., Kazemitabar, S. K., Hashemi, S. H. & Najafi Zarini, H. (2016). Evaluated of effect of cold stress on proline, malondialdehyde and photosynthetic pigments in seedling stage of sesame (*Sesamum indicum* L.) genotypes. *Journal of Crop Breeding*, 8(18), 166-175. (In Farsi)
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, 24(12), 1337-1344.
- Ali, M. M., Ashraffuzaman, M, Ismail, M. R., Shahidullah, S. M. & Prophan, A. K. (2010). Influence of foliar applied GABA on growth and yield contributing characters of white gourd (*Benincasa hispida*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 12(3), 373-376.
- Axelrod, B., Cheesbrough, T. M. & Laakso, S. (1981). Lipoxygenases in soybean. *Methods in Enzymology*, 71, 441-451.
- Bahadoori, S., Esmailpour, B., Heidari, M., Khorramdel, S., Shiekhzadeh, P. & Tavakoli-Pour, B. (2017). Effects of seed priming with plant growth regulators on physiological and biochemical characteristics of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) under low temperature stress. *Journal of Plant Process and Function*, 5(17), 145-156. (In Farsi)
- Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
- Bazl, S. H., Karimi, R., Ershadi, A., Shahbodaghlo, A. & Rasouli, M. (2015). Effect of foliar application of methyl jasmonate in cold tolerance improvement of greenhouse-grown cucumber cv. 'Negin' seedlings. *Journal of Crop Improvement*, 17(2), 441-455. (In Farsi)
- Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A. & Abdelly, C. (2007). Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Regulation*, 53(3), 185-194.
- Bradford, M. N. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhinds, D. & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32, 93-101.
- Farooq, M., Shahzad, M. A., Basra, H. & Rehman, M. (2008). Seed priming with polyamines improves the germination and early seedling growth in fine rice. *Journal of New Seed*, 9(1), 145-155.
- Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photo peroxidation in isolated chloroplasts: I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198.
- Heidarvand, L. & Maali Amiri, R. (2010). What happens in plant molecular responses to cold stress. *Acta Physioogiae Plantarum*, 32, 419-431.
- Hu, X., Xu, Z., Xu, W., Li, J., Zhao, N. & Zhou, Y. (2015). Application of gaminobutyric acid demonstrates a protective role of polyamine and GABA metabolism in muskmelon seedlings under Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 92, 1-10.

- Kafi, M., Tarigholeslami, M., Nezami, A. & Zarghami, R. (2018). Effect of salicylic acid on improving chilling stress damage in corn hybrid SC 400 (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Process and Function*, 6(19), 281-292. (In Farsi)
- Krishnan, S., Laskowski, K., Shukla, V. & Merewitz, E. B. (2013). Mitigation of drought stress damage by exogenous application of a non-protein amino acid  $\gamma$ -aminobutyric acid on perennial ryegrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 138(5), 358-366.
- Kubis, J., Floryszak-Wieczorek, J. & Arasimowicz-Jelonek, M. (2014). Polyamines induce adaptive responses in water deficit stressed cucumber roots. *Journal of Plant Research*, 127(1), 151-158.
- Kumar, D., Kumar, S., Singh, J., Vashistha, B. D. & Singh, N. (2010). Free radical scavenging and analgesic activities of *Cucumis sativus* L. fruit extract. *Journal of Young Pharmacists*, 2(4), 365-368.
- Li, W., Liu, J., Ashraf, U., Li, G., Li, Y., Lu, W., Gao, L., Han, F. & Hu, J. (2016). Exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) application improved early growth, net photosynthesis and associated physio-biochemical events in maize. *Frontiers in Plant Science*, 7, 910-919.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- Luengwilai, K., Saltveit, M. & Beckles, D. M. (2012). Metabolite content of harvested Micro-Tom tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit is altered by chilling and protective heat-shock treatments as shown by GC-MS metabolic profiling. *Postharvest Biology and Technology*, 63, 116-122.
- Luo, H., Gao, H., Xia, Q., Gong, B. & Wu, X. (2011). Effects of exogenous GABA on reactive oxygen species metabolism and chlorophyll fluorescence parameters in tomato under NaCl stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 44(4), 753-761.
- Malekzadeh, P., Khara, J. & Heidari, R. (2012). Effect of exogenous Gama-aminobutyric acid on physiological tolerance of wheat seedling exposed to chilling stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3(1), 611-617. (In Farsi)
- Mirzaei Mashhoud, M., Aelaei, M. & Mortazavi, S. N. (2016).  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) treatment improved postharvest indices and vase-life of 'Red Naomi' rose cut flowers. *Acta Horticulturae*, 1131(5), 33-40.
- Plewa, M. J., Smith, S. R. & Wanger, E. D. (1991). Diethyl dithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research*, 247, 57-64.
- Promyou, S., Ketsa, S. & Van Doorn, W. G. (2012). Salicylic acid alleviates chilling injury in anthurium (*Anthurium andraeanum* L.) flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 64, 104-110.
- Saydpour, F., Sayyari, M. & Ghanbari, F. (2015). Effect of glycine betaine on chilling tolerance of cucumber seedlings. *Journal of Crop Improvement*, 17(1), 53-67. (In Farsi)
- Shelp, B. J., Bozzo, B., Trobacher, C. P., Zarei, A., Deyman, K. L. & Brikis, C. J. (2012). Contribution of putrescine to  $\gamma$ -aminobutyrate (GABA) production in response to abiotic stress. *Plant Science*, 193, 130-135.
- Soleimani-Aghdam, M., Naderi, R., Askari Sarcheshmeh, M. & Babalar, M. (2015). Amelioration of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 70-76.

- Soleimani-Aghdam, M. S., Naderi, R., Malekzadeh, P. & Jannatizadeh, A. (2016). Contribution of GABA shunt to chilling tolerance in anthurium cut flowers in response to postharvest salicylic acid treatment. *Scientia Horticulturae*, 205, 90-96.
- Yadav, S. K. (2010). Cold stress tolerance mechanisms in plants. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(3), 515-527.
- Yang, A., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y. & Zheng, Y. (2011).  $\gamma$ -Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defence response of peach fruit. *Food Chemistry*, 129(4), 1619-1622.
- Vijayakumari, K. & Puthur, J. T. (2016).  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* plants subjected to PEG-induced stress. *Plant Growth Regulation*, 78(1), 57-67.
- Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, S. & Du, R. (2014). Effect of exogenous gamma-aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. *Scientia Horticulturae*, 168, 132-137.
- Zarei, L., Koushesh Saba, M., VafaeEe, Y. & Javadi, T. (2016). Effect of gamma-amino-butyric acid foliar application on physiological characters of tomato (cv. Namib) under salinity stress. *The Plant Production*, 41(1), 15-28. (In Farsi)