Journal of Vegetables Sciences, Spring & Summer 2024, Vol 8, No 15(1), Pages 1-18

Ilam University

doi: 10.22034/iuvs.2024.2028761.1364 Article Type: Research Online ISSN: 2676-4822

The effect of GABA on some morpho-physiological parameters of watermelon seedlings under cold stress

Zahra Omidi[1], Mehdi Saidi[2*], Meisam Mohammadi[3]**

1- Master Graduate, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.
2- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

[*]**Corresponding author:** m.saidi@ilam.ac.ir
[**]**Corresponding author:** me.mohamadi@ilam.ac.ir

(**Received:** 03 July 2023 **Revise:** 11 October 2023 **Accepted:** 21 December 2023)

Extended Abstract

1. **Introduction:** Watermelon (*Citrullus lanatus* L.) belongs to the Cucurbitaceae family. All plants of this family are sensitive to chilling and their planting is done in the warm season. Plants that are always in a wide range of abiotic stresses that have adverse effects on the survival, growth, quality and quantity of agricultural products. In most plants, chilling stress occurs below 10 to 15 °C, and the cucurbitaceae family, including watermelon, shows chilling symptoms at temperatures below 10 °C. Watermelon is one of the most popular tropical products of this family, and the late spring chilling in temperate and cold regions always threatens its seedlings with chilling. γ-aminobutyric acid (GABA) is a non-protein amino acid that can reduce stress in various plants. Therefore, in present research, the effect of GABA treatments as seed priming and foliar spraying was studied on reducing the amount of chilling index and maintaining the quality of watermelon seedlings under cold stress.
2. **Materials and Methods:** The present study was designed and implemented in the research greenhouse of Ilam University in 2018 as a factorial experiment based on a completely randomized design with three repetitions and each repetition including five pots. The first factor included 0, 5 and 10 mM GABA and the second factor was the application method of GABA treatments including seed priming and foliar spraying. The seed priming treatment was applied before planting and the foliar spraying treatment was applied at the seedlings to the stage of four true leaves. At 48 h after foliar spraying, all the seedlings were subjected to cold stress at a temperature of 3 °C for 6 days by 6 h at night. They were placed inside the incubator at night (24:00 to 06:00). 48 h after the end of the cold stress, the seedlings were examined for different traits. The studied traits included chilling index, relative water content, fresh and dry weight of shoot and root, total chlorophyll and carotenoid, malondialdehyde, proline, ion leakage and activity of ascorbate peroxidase and catalase enzymes.
3. **Results and Discussion:** The results showed that the exogenous application of GABA effectively reduced the complications and chilling index, the amount of ion leakage, malondialdehyde and proline in watermelon seedlings, and the RWC, fresh and dry weight of the shoots and roots, total chlorophyll, carotenoids. Also, GABA increased the activity of ascorbate peroxidase and catalase enzymes in watermelon seedlings. This was despite the fact that foliar spraying treatments are more effective than the use of seed priming treatments. Also, in both application methods, the effect of GABA 10 mM in reducing chilling capital and biochemical changes of watermelon seedlings was more than 5 mM. Probably, the exogenous application of GABA has moderated the increase in cell osmolality with the intensity of cold stress by strengthening the antioxidant system and thus reduced the amount of chilling in watermelon seedlings. GABA has been reported as an osmolyte compatible with osmotic stress. As a result, the accumulation of this osmolyte compound in plant cells is used to maintain cell turgor and also to protect the cell membrane, nutrition and metabolism of the plant by preventing the loss of cell water.
4. **Conclusion:** The present study showed that keeping watermelon seedlings under cold stress causes symptoms of chilling and reducing the quality of the seedlings, but the exogenous application of GABA

moderated the chilling and improved the quality of the seedlings compared to the control samples. In this study, the foliar application of GABA was more effective than seed priming and 10 mM concentration maintained the quality of seedlings better than 5 mM in both application methods. Therefore, based on the present results, the use of GABA 10 mM is recommended as a practical solution to prevent damage in "Orangeglo" watermelon seedlings under cold stress.

Keywords: Ascorbate peroxidase, Proline, Chilling index, Malondialdehyde.

Citation: Omidi, Z., Saidi, M. & Mohammadi, M. (2024). The effect of GABA on some morpho-physiological parameters of watermelon seedlings under cold stress. *Journal of Vegetables Sciences*, 15(1), 1-18. doi 10.22034/iuvs.2024.2028761.1364

Copyrights:
Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to Journal of Vegetables Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/ by/4.0).

دوفصلنامه علمی علوم سبزی‌ها، سال۸ ، دوره ۱۵، شماره ۱، بهار و تابستان۱۴۰۳، صفحات (۱۸-۱)

شاپا الکترونیکی: ۴۸۲۲-۲۶۷۶ نوع مقاله: پژوهشی doi: 10.22034/iuvs.2024.2028761.1364

اثر گابا بر برخی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاهچه‌های هندوانه تحت تنش سرما

زهرا امیدی[۱]، مهدی صیدی[۲]* و میثم محمدی[۳]**

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

*نویسنده مسئول: m.saidi@ilam.ac.ir

**نویسنده مسئول: me.mohamadi@ilam.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۲ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۷/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۱)

چکیده

هندوانه یکی از محصولات پرطرفدار گرمسیری در ایران است که سرمای دیررس بهاره در مناطق معتدله و سردسیری باعث می‌شود همواره خطر سرمازدگی گیاهچه‌های آن را تهدید کند. گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) یک اسیدآمینه غیرپروتئینی است که با نقش سیگنالی خود می‌تواند باعث کاهش خسارت تنش در گیاهان مختلف شود. در پژوهش حاضر اثر محلول‌پاشی و پرایمینگ‌بذربا گلبا ۵ و ۱۰ میلی‌مولار بر برخی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاهچه‌های هندولنه رقم "Orangeglo" تحت تنش سرما ۳ درجه سانتی‌گراد به صورت طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد کاربرد خارجی گابا بخوبی باعث کاهش علائم و شاخص سرمازدگی، میزان نشت یونی، محتوای مالون دی آلدهید و پرولین در گیاهچه‌های هندوانه شدند و محتوای آب نسبی برگ، وزن تر و خشک در شاخساره و ریشه، محتوای کلروفیل کل، کاروتنوئید و فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز را در گیاهچه‌های هندوانه افزایش دادند. این در حالی بود که تیمارهای محلول‌پاشی اثرگذاری بیشتری نسبت به کاربرد پرایمینگ بذر داشتند. همچنین در هردو روش کاربرد اثر غلظت ۱۰ میلی‌مولار گابا در کاهش خسارت سرمازدگی و تغییرات بیوشیمیایی گیاهچه‌های هندوانه بیشتر از غلظت ۵ میلی‌مولار آن بود. بنابراین باتوجه به نتایج بدست آمده کاربرد تیمار محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌مولار گابا به عنوان راهکاری موثر در القای مقاومت به سرمازدگی در گیاهچه‌های هندوانه توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پرولین، شاخص سرمازدگی، مالون دی آلدهید.

استناد: امیدی، ز.، صیدی، م. و محمدی، م. (۱۴۰۳). اثر گابا بر برخی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاهچه‌های هندوانه تحت تنش سرما. *علوم سبزی‌ها*، ۱۵(۱)، ۱۸-۱.

حق چاپ:

حق چاپ برای نویسنده (گان) این مقاله محفوظ است. بر اساس قوانین انتشارات با دسترسی آزاد، تمام مطالعات چاپ شده در این مجله به‌صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل‌دسترس است.

مقدمه

هندولنه با نام علمی (*Citrullus lanatus* L.) متعلق به خانواده کدوییان است. همه‌ی گیاهان این خانواده نسبت به سرما حساس هستند و کاشت آن‌ها در فصل گرم انجام می‌گیرد (Aragao *et al.*, 2013). گیاهان همواره در معرض طیف وسیعی از تنش‌های غیرزیستی هستند که این تنش‌ها اثرات نامطلوبی بر بقاء، رشد، کیفیت و کمیت محصولات کشاورزی دارند (Saidi *et al.*, 2020). کاشت بهاره هندوانه در مناطق معتدله و سرد همواره با خطر سرمای دیرس بهاره و بروز تنش سرمازدگی همراه است. تنش سرمازدگی همه ساله خسارات قابل توجهی را به اقتصاد و چرخه تولید کشور تحمیل می‌کند که بخش زیادی از این خسارت به سبزیجات و صیفی‌جات گرمسیری که بطور مستقیم کاشت می‌شوند تحمیل می‌شود. سرمازدگی ممکن است در طی دوره رشد و نمو گیاه در فصل بهار که دما پایین است یا در هر زمان دیگری در طول فصل رشد که دمای هوا تا پایین‌تر از حد مطلوب کاهش یابد، رخ دهد.

در اکثر گیاهان تنش سرمازدگی در دمای پایین‌تر از ۱۰ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد رخ می‌دهد که خانواده کدوییان از جمله هندوانه در دماهای کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد علائم سرمازدگی را نشان می‌دهند. سرما به عنوان یک تنش اسمزی جذب آب از ریشه گیاه را محدود کرده و باعث افت پتانسیل آب و انتقال آب سیمپلاست به آپوپلاست می‌شود که کم‌آبی شدیدی را به دنبال خواهد داشت (Thomas, 1990). همچنین سبب از بین رفتن تراوایی غشا و نشت ترکیبات داخلی سلول از جمله پتاسیم به بیرون سلول می‌شود. علائم ظاهری خسارت سرمازدگی بسته به گونه، سن گیاه و مدت زمان در معرض دماهای پایین متفاوت است (Mohammadi *et al.*, 2023). تنش سرمایی بیشترین خسارت را در مرحله دانهالی و فاز زایشی بر روی گیاه می‌گذارد که به ترتیب باعث کاهش استقرار گیاهچه و کاهش تشکیل میوه و بذر و در نتیجه کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Sanghera *et al.*, 2011).

تنش سرما به‌وسیله گیرنده‌هایی در غشا سلولی درک می‌شود. سپس با انتقال سیگنال ژن‌های پاسخ به سرما و فاکتورهای نسخه‌برداری عامل تحمل به سرما فعال می‌شوند (Yadav *et al.*, 2010).

گیاهان برای مقابله با تنش‌های محیطی سازوکارهای دفاعی مختلفی از جمله تولید ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی دارند. در شرایط بروز تنش سرما، افزایش تجمع ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی شامل اسیدآمینه (مانند پرولین و گلایسین بتائین)، کربوهیدرات، پروتئین‌ها و برخی یون‌های معدنی در گیاهان انجام می‌شود. این ترکیبات باعث حفظ فشار اسمزی و همچنین تثبیت ساختار پروتئین و غشای سلولی تحت شرایط تنش می‌شوند که در نتیجه نقش مهمی در سازگاری سلول‌ها به تنش محیطی دارند (Bahadoori *et al.*, 2016). میزان استحکام غشا پلاسمایی طی زمانی که گیاه در معرض سرما است، نشان‌دهنده میزان تحریک ژن‌های پاسخ دهنده به تنش سرما می‌باشد. سیگنال‌های دریافت شده به‌وسیله گیرنده‌های موجود در غشا به دریافت کننده‌های ثانویه منتقل می‌شوند. دریافت کننده‌های سیگنال شامل ترکیبات متفاوتی از جمله کلسیم، گونه‌های فعال اکسیژن، پروتئین کینازها، پروتئین فسفاتاز‌ها، چربی‌ها و آبشار سیگنالی چربی‌ها می‌باشد (Yadav *et al.*, 2010). افزایش فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش میزان چربی‌های غیراشباع موجود در غشا تیلاکوئید نیز در ارتباط با توانایی گیاه در ترمیم فتوسیستم‌های تخریب شده در اثر دمای پایین می‌باشد (Radhakrishnan *et al.*, 2014).

در گزارشی Zhang و همکاران (2009) بیان داشتند که شواهد بسیار زیادی نشان می‌دهد سیستم آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در محافظت گیاه در برابر خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش سرما دارد. برای محافظت سلول‌ها و اندامک‌ها از تخریب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای در درون سلول‌ها وجود دارد که شامل

آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز می‌شود (Farooq *et al.*, 2008). از اینرو کشاورزان و تولیدکنندگان همواره به دنبال راهکارهایی برای کاهش خطر سرمازدگی در گیاهان در هنگام بروز تنش سرما هستند. استفاده از انواع ترکیبات شیمیایی و غیرشیمیایی سازگار با محیط زیست در مراحل مختلف رشد از جمله راهکارهای پیشنهادی جهت کاهش خسارت سرمازدگی می‌باشد.

گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) یک اسید آمینه چهار کربنه غیرپروتئینی است که در باکتری‌ها، گیاهان و جانوران گزارش شده است (Mohammadi *et al.*, 2021). این اسید آمینه با نقش سیگنالی خود نقش شایانی در تنظیم پاسخ به تنش، رشد و توسعه گیاهان دارد (Song *et al.*, 2010). در گزارشی Mazzucotelli و همکاران (۲۰۰۶) سازگاری به دماهای پایین در گندم و جو توسط تیمار گابا به تجمع گابا درونی و تحریک بیان ژن‌های آنزیم‌های سنتز کننده گابا نسبت دادند. متابولیت‌هایی مانند گابا و سایر قندهای الکلی مانند سوربیتول و مانیتول، اسیدآمینه‌ها مانند پرولین و پلی‌آمین‌ها، تحت تنش در گونه‌های گیاهی مختلف افزایش می‌یابند. این متابولیت‌ها می‌توانند به عنوان اسمولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها گیاهان را در برابر تنش حفظ کنند (Krishnan *et al.*, 2013). کاربرد خارجی گابا آسیب اکسیداتیو ناشی از سمیت H^+ و Al_3 در گیاه جو و آسیب سرمایی در میوه هلو را توسط القای تجمع پرولین درونی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش داد (Song *et al.*, 2010; Shelp *et al.*, 2012). Saidi و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که پرایمینگ بذر خیار با گابا نقش بسزایی در کاهش خسارت سرمازدگی به گیاهچه‌ها تحت اعمال تنش سرمایی دارد. آن‌ها تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و تجمع پرولین آزاد درونی در گیاهچه‌های خیار تیمار شده را از مهم‌ترین مکانیسم‌های عمل تیمار گابا در این پژوهش گزارش کردند. در گزارشی دیگر کاربرد خارجی گابا (۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ، کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید از طریق حفظ پایداری غشا و افزایش فعالیت آنزیم‌های گایاکل پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه چچم چندساله تحت تنش خشکی شد (Krishnan *et al.*, 2013). در پژوهشی دیگر تأثیر مثبت محلول‌پاشی گابا بر بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی توسط Zarei و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شد. کاربرد خارجی گابا در گل‌های آنتوریوم در قبل و پس از برداشت باعث افزایش عمر گلجایی، کاهش شاخص سرمازدگی در ضمن کاهش قهوه‌ای شدن اسپات شد و باعث تأخیر در افزایش نشت یونی و تجمع مالون‌دی‌آلدهید در گل‌های بریده شد. همچنین گل‌های شاخه بریده آنتوریوم تیمارشده با گابا دارای فعالیت بالای آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز و فعالیت پایین آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، تجمع بیشتر ترکیبات فنولی و پرولین بودند. در گزارشی دیگر Mohammadi و همکاران (۲۰۲۰:۲۰۲۱) افزایش عمرگلجایی و کاهش خسارت سرمازدگی در گل‌های ژربرا تیمار شده با گابا را گزارش کردند. افزایش تجمع پرولین و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از مهم‌ترین مکانیسم‌ها اثر گلبا برای کاهش خسارت سرمازدگی و حفظ کیفیت پس از برداشت گل‌های شاخه بریده ژربرا معرفی شد.

بنابراین با توجه به حساسیت گیاهچه‌های هندوانه به سرمای دیرس بهاره، اهمیت توجه به پژوهش‌ها در راستای یافتن راهکاری جهت القای مقاومت به سرمازدگی در گیاهچه‌های هندوانه احساس می‌شود. بنابراین در این پژوهش حاضر اثر محلولپاشی برگی و پرایمینگ بذر با گابا بر مقاومت به سرمازدگی و برخی تغییرات بیوشیمیایی گیاهچه‌های هندوانه تحت تنش سرما مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

مواد آزمایشی و تیمارها

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۷ در گلخانه پژوهشی دانشگاه ایلام و به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل پنج گلدان طراحی و اجرا شد. فاکتور اول شامل غلظت‌های صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا) و فاکتور دوم روش کاربرد شامل پرایمینگ بذر و محلول‌پاشی برگی بود. برای پرایمینگ ابتدا نیمی از بذرهای هندوانه رقم "Orangeglo" برای مدت ۲۴ ساعت در غلظت-های مختلف گابا خیسانده شد و مابقی (در مرحله ۴ برگ حقیقی محلول‌پاشی شدند) بذرها در داخل آب مقطر خیسانده شد و سپس هر دو گروه بذر در داخل گلدان‌های با بستر کاشت خاک، ماسه و کود دامی به نسبت ۱:۱:۱ کشت شدند. پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله چهار برگ حقیقی تیمارهای محلول‌پاشی برگی نیز توسط اسپری دستی به صورتی که تمام گیاه خیس شود اعمال شد و ۴۸ ساعت بعد از آن همه‌ی گیاهچه‌ها تحت تنش سرمایی در دمای سه درجه سانتی‌گراد طی شش روز به مدت شش ساعت در هر شبانه‌روز (ساعت ۲۴ شب الی شش صبح) در داخل انکوباتور قرار گرفتند. ۴۸ ساعت پس از پایان تنش سرمایی، گیاهچه‌ها از نظر صفات مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. صفات مورد بررسی شامل شاخص سرمازدگی، محتوای آب نسبی برگ، وزن تر و خشک شاخساره و ریشه، کلروفیل کل و کاروتنوئید، محتوای مالون‌دی‌آلدهید، پرولین، نشت یونی و فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز بود.

شاخص سرمازدگی

شاخص سرمازدگی به صورت کیفی و بر اساس پژمرده شدن، از دست‌دهی آب و نکروزه شدن برگ‌ها و شاخه‌ها ارزیابی شد. بدین منظور گیاهان بر اساس میزان علائم سرمازدگی به صورت نمره‌دهی از ۱ تا ۵ درجه‌بندی شدند و میزان سرمازدگی بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد. در نهایت میانگین خسارت برای هر تیمار بر حسب درصد محاسبه گردید. نمره ۱ نرمال: هیچ علائمی از سرمازدگی مشاهده نشد، نمره ۲ سرمازدگی خیلی ضعیف: نواحی کوچک نکروزه روی شاخه‌ها اما بدون محدودیت رشد (کمتر از پنج درصد سطح برگ ها نکروزه می‌شود)، نمره ۳ سرمازدگی ضعیف: نواحی کوچک نکروزه روی برگ‌ها (کمتر از ۱۵ درصد سطح برگ‌ها نکروزه شدند)، نمره ۴ سرمازدگی ملایم: نواحی نکروزه مشخص روی شاخه‌ها (تا ۳۰ درصد از سطح برگ‌ها نکروزه شدند)، نمره ۵ سرمازدگی شدید: نواحی نکروزه شدید همراه با کاهش رشد شدید (بیش از ۵۰ درصد برگ‌ها نکروزه شدند اما هنوز گیاه زنده است).

در رابطه ۱، 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*., 2011b; Saidi *et al*., 2020).

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

محتوای آب نسبی برگ، وزن تر و خشک شاخساره و ریشه

برای تعیین محتوای نسبی آب برگ ابتدا تعدادی مساوی برگ تکامل یافته از بخش‌های بالایی گیاهچه‌ها از هر واحد آزمایشی انتخاب و جدا گردید. بعد از جدا نمودن برگ‌ها از گیاه بلافاصله وزن اولیه (FW) نمونه‌ها در محیط آزمایشگاهی با ترازو دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم (Sartorius- ED224S) اندازه‌گیری شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر (جهت آب‌گیری کامل) قرارگرفته و در این مدت در محیط آزمایشگاهی با دمای تقریبی ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و پس از خشک شدن آب سطحی با استفاده از کاغذ صافی مجدداً وزن اشباع (TW) اندازه‌گیری شد. پس از آن برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد در داخل آون قرار داده شدند. پس از این مدت نمونه‌ها وزن خشک (DW) اندازه‌گیری شد. از رابطه ۲ محتوای آب نسبی برگ محاسبه گردید (Ritchie *et al*., 1990).

$$\mathbf{RWC} = \frac{(\mathrm{FW}-\mathrm{DW})}{(\mathrm{TW}-\mathrm{DW})}\times 100 \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک شاخساره و ریشه از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم (ALC 150.3- Acculab) استفاده شد، بدین منظور از هر تکرار تعدادی گیاه انتخاب و از بالای طوقه با دقت برش داده و بلافاصله قسمت بالای طوقه به عنوان وزن تر شاخساره توزین شدند و ریشه‌های آن‌ها را نیز به آرامی به کمک جریان ملایم آب از خاک اطراف پاک گردید و پس از خشک کردن رطوبت سطحی توسط دستمال کاغذی به عنوان وزن تر ریشه توزین گردیدند. برای اندازه‌گیری وزن خشک این نمونه‌ها، به صورت جداگانه در داخل پاکت-های کاغذی به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (Saidi *et al*., 2020).

نشت یونی، محتوای مالون دی آلدهید و پرولین

اندازه‌گیری نشت یونی با روش Lutts (2000) انجام شد. برای این منظور ۱۰ قطعه یکسان از برگ با قطر یکسان از قسمت میانی برگ‌های توسعه‌یافته توسط پانچ دستی به قطر ۱۰ میلی‌متر برداشت شد. نمونه‌ها در داخل لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل شدند. سپس بر روی شیکر با سرعت ۱۳۰ دور در دقیقه برای مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی اولیه (EC_1) محلول توسط دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی (Jenway-ENG 4010) اندازه-گیری شد. سپس محلول حاوی نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در حمام بن‌ماری در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از سرد شدن نمونه‌ها هدایت الکتریکی ثانویه (EC_2) محلول اندازه‌گیری شد. نشت یونی با استفاده از رابطه ۳ بر حسب درصد محاسبه شد (Lutts, 2000).

(رابطه ۳)

$$\mathbf{EL} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

محتوای مالون دی آلدهید که نشان‌دهنده میزان پراکسیده شدن لیپیدهای غشا است از روش Zheng و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. در این روش ابتدا ۰/۲۵ گرم از بافت گیاه را در پنج سی‌سی از تری‌کلرواستیک‌اسید ۰/۱ درصد همگن‌شد سپس در دستگاه سانتریفیوژ با ۱۰ هزار دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. یک میلی‌لیتر از عصاره رویی را همراه با ۴ سی‌سی از تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ گرم تیوباربیتوریک اسید مخلوط کرده و ۳۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها برای اتمام واکنش بر روی یخ قرار داده شدند. برای تهیه بلانک در این آزمایش از ۴ سی سی تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ گرم تیوباربیتوریک اسید استفاده گردید. در نهایت جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (Analytik Jena- Specrd 50 Plus) قرائت شد. میزان جذب رنگیزه‌های غیر اختصاصی در طول موج ۶۰۰ نانومتر از جذب در طول موج ۵۳۲ کسر گردید (رابطه ۴).

$$\mathbf{MDA} = \frac{(\mathbf{A532nm - A600nm})}{(\mathbf{QD \times QF})} \times \mathbf{DF}$$ (رابطه ۴)

در این رابطه مقدار MDA بر حسب نانومول بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد. قطر کوئت(QD) یک سانتی‌متر، ضریب خاموشی (QF) ۱۵۵ میلی‌مول بر سانتی‌متر و فاکتور رقت(DF) در این روش ۱۵بود.

مطالعه محتوای پرولین در گیاهچه‌ها از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. برای این منظور ابتدا مقدار ۰/۲ گرم برگ تازه وزن شد و به وسیله ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد بخوبی همگن شد. سپس ترکیب حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره رویی با ۲ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال مخلوط شد. پس از آن لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌ها به مدت یک ساعت در آب ۱۰۰ درجه قرار داده شد. پس از سرد کردن نمونه‌ها، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به آن‌ها اضافه شد و با استفاده از دستگاه ورتکس به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه لوله‌ها تکان داده شد. سرانجام جذب فاز رویی که به رنگ قرمز و حاوی پرولین محلول در تولوئن است توسط

دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین بر حسب میکرومول در گرم بافت تازه برگ و با استفاده از منحنی استاندارد پرولین تعیین شد.

محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری کلروفیل کل و کارتنوئید با روش Arnon (۱۹۶۷) ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه فریز شده توزین و در ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد همگن شد و به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد، سپس بخش رویی پس از رقیق‌سازی با استون ۸۰ درصد به به نسبت ۱ به ۱۰با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب محلول در طول موج های۶۶۳، ۴۸۰، ۶۴۵، ۵۱۰ خوانده شد. در نهایت با استفاده از رابطه‌های ۵ و ۶ به ترتیب کلروفیل کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه شد.

(رابطه ۵)

$$\textbf{Total Chl.} = 20.2(A645) + 8.02(A666)$$

(رابطه ۶)

$$\textbf{Cartenoid}=7.6(A480)–1.49(A510)\times V/1000\ w$$

A: جذب طول موج بر حسب نانومتر، W: وزن تر بافت بر حسب گرم g: بافت بر حسب گرم، V: حجم نهایی کلروفیل و کاروتنوئید در استون ۸۰ درصد.

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از واکنش عصاره آنزیمی با پراکسید هیدروژن استفاده شد. در این روش ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرولیتر بافرفسفات پتاسیم (pH=7)، ۰/۱۵ میکرولیتر EDTA، ۵۵۰ میکرولیتر آب مقطر را در تیوپ ریخته و ۳۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن به آن اضافه شد و بلافاصله تغییرات جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۲۴۰ نانومتر طی یک دقیقه ثبت گردید. تغییرات جذب به دست آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر ۴۰ مول بر سانتی-متر است تقسیم شد. فعالیت آنزیمی بر حسب مول در کیلوگرم وزن تر بیان شد. برای اندازه‌گیری آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۳۷/۵ میکرولیتر آسکوربات، ۱۱۱۸/۸۵ میکرولیتر آب مقطر در تیوپ ریخته شد و ۱/۵ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد و بلافاصله در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۲۹۰ نانومتر میزان جذب آن یادداشت و پس از سپری شدن مدت زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر ۲/۸ میلی‌مول بر سانتی‌متر است تقسیم شد و فعالیت آنزیمی بر حسب مول در کیلوگرم وزن تر گزارش شد (Obinger *et al*., 1997). از مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی به عنوان بلانک استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج پژوهش حاضر پس از جمع‌آوری توسط نرم‌افزار SAS(9.2) به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و با استفاده از آزمون مقایسه میانگین توکی در سطح احتمال ۵ درصد تجزیه و نتایج به صورت نمودار در با استفاده از نرم‌افزار اکسل تهیه و گزارش شد.

نتایج و بحث

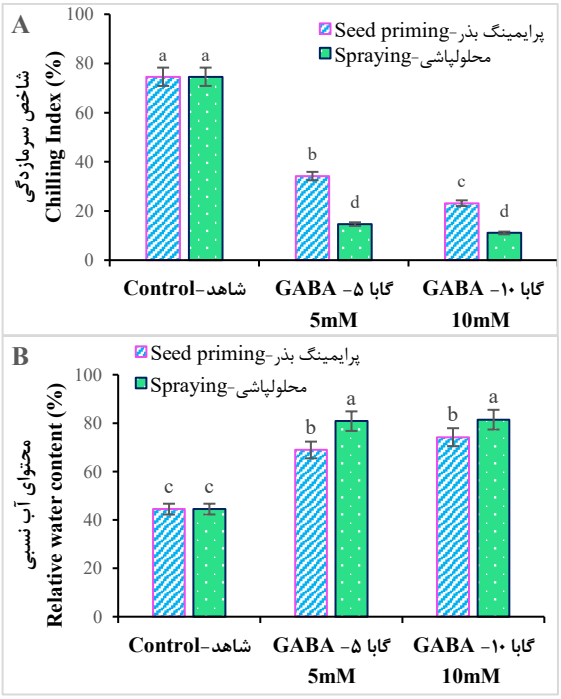
شاخص سرمازدگی و محتوای آب نسبی

نتایج نشان داد نگهداری گیاهچه‌های هندوانه در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد باعث بروز علائم سرمازدگی شد که در نتیجه شاخص سرمازدگی افزایش یافت، ولی کاربرد گابا در هر دو روش پرایمینگ بذر و محلول‌پاشی برگی همراستا با کاهش خسارت تنش سرمایی میزان شاخص سرمازدگی را کاهش داد. این درحالی بود که تیمارهای محلول‌پاشی موثرتر از روش پرایمینگ بذر بود. همچنین اگرچه در روش کاربرد محلول‌پاشی بین غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار گابا اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در کاربرد به روش پرایمینگ اثر غلظت ۱۰ میلی‌مولار گابا بیشتر از غلظت ۵ میلی‌مولار بود (شکل A.۱). بررسی نتایج محتوای آب نسبی برگ نشان داد تیمارهای گابا بخوبی باعث افزایش این شاخص در گیاهچه‌های هندوانه نسبت به نمونه‌های شاهد شدند.

برای این شاخص اثر کاربرد محلول‌پاشی بهتر از پرایمینگ بذر بود و بین غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار نیز در هر دو روش کاربرد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل B.۱).

درجه آسیب سرما بسته به مرحله رشد و نمو و تغذیه گیاه در طول تنش سرما بر حسب گونه گیاهی متفاوت است. آسیب سرما همچنین به شرایط محیطی مانند دما، رطوبت، نور و آب بستگی دارد. مشخص شده که در گونه‌های حساس به سرما، تنش سرما به علت تخریب اکسیداتیو ناشی از تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن باعث آسیب بیشتر می‌شود (Amooaghaie & Shariat, 2014). به طور کلی آسیب سرمازدگی ابتدا در غشای سلولی همراه با تغییر در ترکیب اسیدهای چرب فسفولیپیدها اتفاق می‌افتد و آسیب غشایی موجب شروع واکنش‌های ثانویه می‌گردد که منجر به تخریب ساختار سلولی می‌شود. فسفولیپاز D (PLD) مهم‌ترین آنزیم در هیدرولیز فسفولیپیدهای غشا می‌باشد. همچنین لیپوکسیژناز (LOX) پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی را افزایش داده و سیالیت غشا را تغییر می‌دهد و تأثیر مستقیم بر انسجام و نفوذپذیری غشای سلولی دارد. فعالیت این دو آنزیم آغازگر تجزیه غشای سلولی در طول فرایند پیری ویا تنش سرمازدگی است (سلیمانی اقدم و اصغری، ۱۳۹۵). در این میان سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه نقش مهمی بر کاهش خسارات ایجاد شده توسط گونه‌های فعال اکسیژن و دمای پایین دارد، بطوریکه تحمل تنش سرمایی با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه رابطه مستقیم دارد (Yang *et al.*, 2011b; Mohammadi *et al.*, 2023).

احتمالاً کاربرد خارجی گابا با تقویت سیستم آنتی-اکسیدانی، افزایش ترکیبات اسمولیتی سلولی شدت تنش سرما را تعدیل کرده و در نتیجه باعث کاهش شاخص سرمازدگی در گیاهچه‌های هندوانه تیمار شده نسبت به نمونه‌های شاهد شد. گابا به عنوان یک اسمولیت سازگار تحت تنش اسمزی گزارش شده است. در نتیجه تجمع این اسمولیت در سلول‌های گیاهی منجر به حفظ تورژسانس سلولی و همچنین محافظت از غشای سلولی، پروتئین و سوخت و ساز گیاه از طریق جلوگیری از هدر رفت آب سلول می‌گردد. تحقیقات روی گیاهان چچم چندساله نشان داد که گابا به عنوان یک مولکول سیگنال دهنده در هماهنگی با هورمون‌های گیاهی مانند اسیدآبسزیک و اتیلن عمل می‌کند. احتمالاً گابا با افزایش تجمع آبسزیک اسید می‌تواند باعث کاهش اندازه منافذ روزنه در عکس‌العمل به تنش گردد و در نهایت موجب کاهش هدررفت آب و هدایت روزنه‌ای و افزایش محتوای نسبی آب برگ و تحمل بیشتر به تنش گردد (Krishnan *et al.*, 2013). گزارش شده است که گابا پتانسیل اسمزی گیاهانی که در برابر تنش اسمزی قرار می‌گیرند، حفظ کرده و ازتداخل فعالیت‌های طبیعی سلول جلوگیری می‌کند. کاهش در پتانسیل اسمزی با تغییرات کمتر محتوای آب نسبی برگ همراه است که این امر نشان می‌دهد در شرایط تنش اسمزی در حضور گابا تنظیم اسمزی بهتری انجام می‌شود (Fait *et al.*, 2008; Xia *et al.*, 2011).



شکل ۱- اثر گابا بر شاخص سرمازدگی (A) و محتوای آب نسبی برگ (B) در گیاهچه‌های هندوانه تحت تنش سرمایی (میانگین‌های±انحراف معیار که دارای حداقل یک

حرف مشترک هستند از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی فاقد اختلاف معنی‌داری می‌باشند).

Figure 1- The effect of GABA on chilling index (A) and relative water content of leaves (B) in watermelon seedlings under cold stress (Means ± standard deviations that have at least one letter in common have no statistically significant difference at the 5% probability level of Tukey's test).

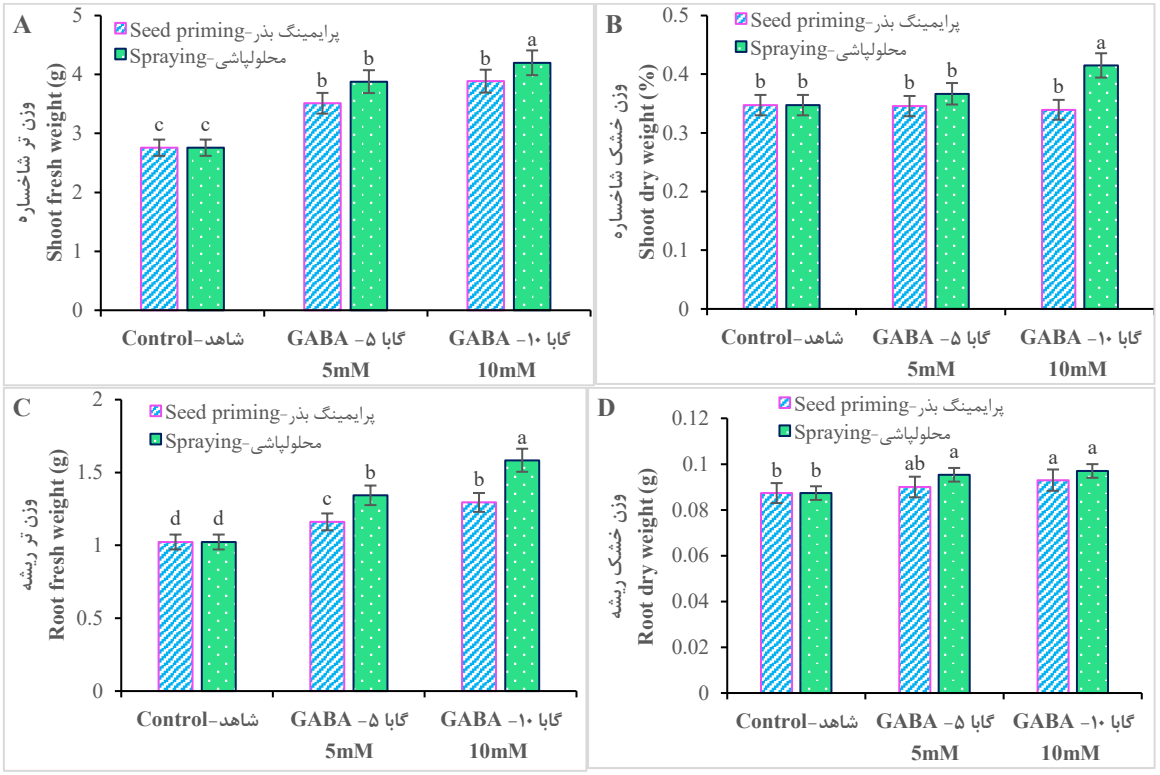
وزن تر و خشک در شاخساره و ریشه

نتایج نشان داد که تیمارهای گابا باعث افزایش وزن تر و خشک شاخساره در گیاهچه‌های هندوانه شدند. بطوریکه بیشترین وزن تر شاخساره مربوط به تیمار محلول‌پاشی گابا ۱۰ میلی‌مولار و کمترین در نمونه‌های شاهد مشاهده شدند. این درحالی بود که در مرتبه دوم سایر تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر دارای وزن تر بیشتری نسبت به شاهد بودند (شکل A.۲). همچنین مشاهده نتایج وزن خشک شاخساره نشان داد که بیشترین مقدار این شاخص مربوط به تیمار محلول‌پاشی گابا ۱۰ میلی‌مولار بود، ولی سایر تیمارها با نمونه‌های شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل B.۲). وزن تر ریشه نشان داد که این شاخص تحت تأثیر تیمار گابا افزایش یافت ولی اثر کاربرد به صورت محلول‌پاشی بهتر از پرایمینگ بذر بود و همچنین اثرگذاری غلظت ۱۰ میلی‌مولار گابا نسبت به غلظت ۵ میلی‌مولار آن بیشتر بود (شکل C.۲). همچنین نتایج نشان داد که وزن خشک ریشه تحت تأثیر گابا افزایش یافت ولی بین تیمارها با همدیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین اگرچه تیمار پرایمینگ بذر ۵ میلی‌مولار با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ولی سایر تیمارها دارای وزن خشک بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد بودند (شکل D.۲).

گیاهان به درجه حرارت بهینه‌ای برای بسیاری از مکانیسم‌های سوخت و ساز از جمله فتوسنتز نیاز دارند. احتمالاً کاهش و یا افزایش درجه حرارت باعث اختلال در فرایند فتوسنتز و در نتیجه کاهش میزان وزن تر و خشک اندام‌های مختلف گیاه می‌شود. سنتز برخی از هورمون‌های گیاهی از جمله سیتوکینین و بسیاری از اسیدهای آمینه در ریشه گیاه، در اثر سرما دچار اختلال می شود که به کاهش رشد شاخساره گیاه می‌انجامد. همچنین سرما از طریق تأثیر بر رشد گرانشی ریشه، سبب محدودیت رشد آن می‌شود، این پاسخ گرانشی به طور ویژه‌ای به مقدار اکسین ریشه وابسته است. این اختلاف موجب محدود شدن رشد ساقه و در نتیجه کاهش سنتز هورمون‌ها می‌شود و ضعیف شدن گیاه را در پی دارد (Saydpour *et al*., 2015). کاهش رشد گیاه به ویژه رشد طولی بخش هوایی را می‌توان نتیجه اثر منفی تنش سرما، کاهش فتوسنتز و در نتیجه کمبود کربوهیدرات‌ها برای رشد گیاه دانست. از سوی دیگر، می‌توان آن را یک پاسخ سازشی برای گیاه تلقی کرد. به این معنی که شرایط تنش، گیاهان به جای آنکه کربوهیدرات‌ها را بیشتر صرف رشد طولی سلول نمایند، به طور محلول در سلول‌ها نگه می‌دارند تا نقطه انجماد پروتوپلاسم را پایین آورند و از آسیب یخزدگی زودرس حفاظت کنند (Amooaghaie & Shariat, 2014). همچنین سرما تمام جنبه‌های عملکرد سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. صدمه به ریشه در اثر دمای پایین سبب کاهش جذب آب و مواد معدنی و در نتیجه اختلال در رشد گیاه می‌شود. کاهش رشد ریشه و به دنبال آن اختلال در انتقال مواد، سبب ظهور اثرهای ثانویه ناشی از کمبود مواد غذایی مانند کاهش رشد، کاهش وزن تر و خشک در اندام‌های هوایی و ریشه می‌شود(Ashraf & Foolad, 2007).

احتمالاً کاربرد خارجی گابا با کاهش کاهش خسارت تنش سرما به سلول‌های گیاه باعث حفظ کارکرد طبیعی گیاه و در نتیجه افزایش وزن تر و خشک شاخساره و ریشه در گیاهچه‌های هندوانه تیمار شده نسبت به نمونه‌های شاهد شده است. کاربرد خارجی گابا در برگ‌های گیاه کدو در غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر می‌توانست باعث افزایش رشد رویشی و افزایش عملکرد آن شود که این تغییر به تأثیر گابا در تقسیم سلولی و طویل شدن سلول‌ها و همچنین تحریک تولید تنظیم-کننده‌های رشد توسط تیمار گابا نسبت داده شده است (Ali *et al*., 2010). همچنین افزایش وزن تر و خشک

ریشه در گیاه خربزه تحت شرایط تنش با کلسیم نیترات، در اثر کاربرد خارجی گابا گزارش شده است (Hu *et al.*, 2015).



شکل ۲-اثر گابا بر وزن تر شاخساره (A)، وزن خشک شاخساره (B)، وزن تر ریشه (C) و وزن خشک ریشه (D) در گیاهچه‌های هندوانه تحت تنش سرمایی (میانگین‌های±انحراف معیار که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی فاقد اختلاف معنی‌داری می‌باشند).

Figure 2- The effect of GABA on shoot fresh weight (A), shoot dry weight (B), root fresh weight (C) and root dry weight (D) in watermelon seedlings under cold stress (Means ± standard deviations that have at least one letter in common have no statistically significant difference at the 5% probability level of Tukey's test).

نشت یونی، محتوای مالون دی آلدهید و پرولین

نتایج نشان داد که نشت یونی، محتوای مالون دی آلدهید و پرولین با کاربرد گابا بطور قابل توجهی نسبت به شاهد کاهش داشتند، بطوری که کمترین و بیشترین مقدار نشت یونی در گیاهچه‌های هندوانه مربوط به نمونه‌های شاهد و محلول‌پاشی گابا ۱۰ میلی‌مولار بود. پس از آن به ترتیب محلول‌پاشی ۵ میلی‌مولار، پرایمینگ ۱۰ میلی‌مولار و پرایمینگ ۵ میلی‌مولار دارای نشت یونی کمتری نسبت به شاهد بودند (شکل A.۳). در نمودار مربوط به محتوای مالون دی آلدهید نتایج نشان می‌دهد که اگرچه تیمارهای گابا دارای محتوای مالون دی آلدهید کمتری نسبت به شاهد بودند ولی بین غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌مولار در هردو روش کاربرد گابا اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و کاربرد محلول‌پاشی گابا، محتوای مالون دی آلدهید را نسبت به پرایمینگ بذر به مقدار بیشتری کاهش داد (شکل B.۳). نتایج مربوط به پرولین نیز نشان داد این شاخص مشابه مالون دی آلدهید در گیاهچه‌ها تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت، بطوریکه بیشترین و کمترین مقدار در نمونه‌های شاهد و تیمار محلول‌پاشی گابا مشاهده شد و همچنین در هردو روش کاربرد بین

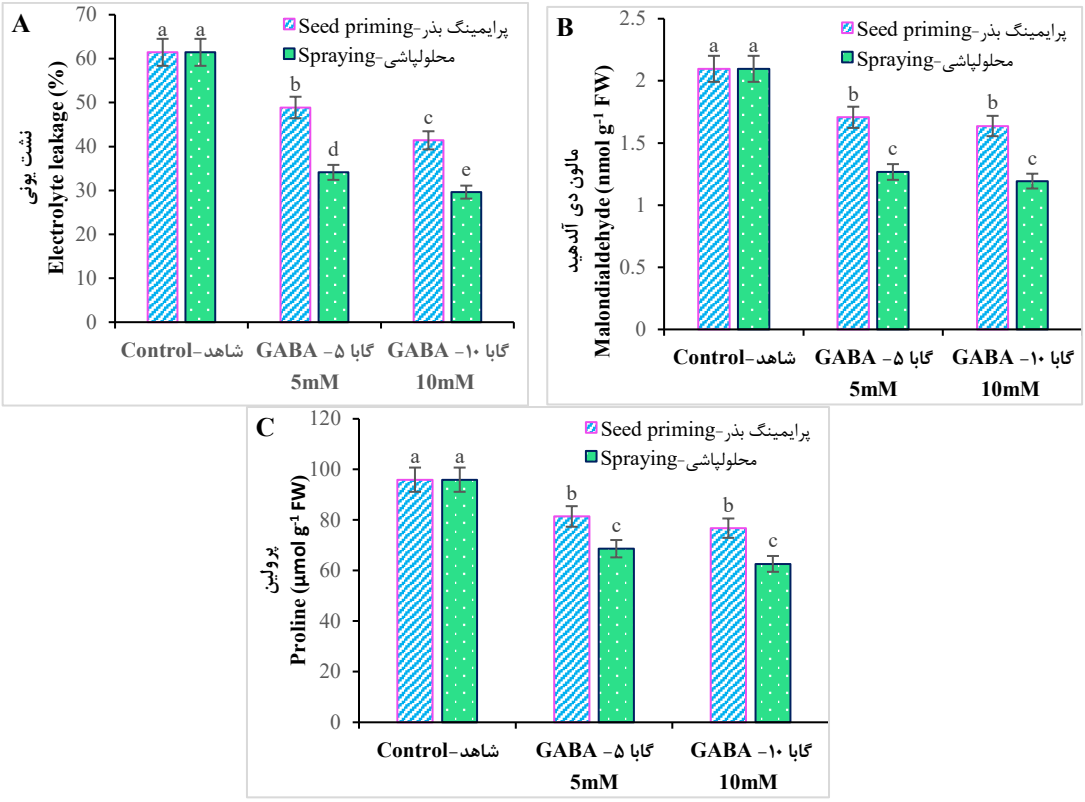
غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل C.۳).

احتمالاً کاهش میزان نشت یونی در کاربرد گابا موجب کاهش شاخص سرمازدگی به واسطه‌ی کاهش خسارت به غشای سلولی شده است. اکسیداسیون لیپیدها می‌تواند به علت تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌هایی نظیر لیپواکسیژناز صورت پذیرد. گابا ممکن است سبب ممانعت از اکسیداسیون لیپیدهای غشا توسط تنش سرما شود (Promyou *et al.*, 2010). همچنین گابا احتمالاً از طریق افزایش آنزیم‌های ضداکسایشی همانند پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داده و در نتیجه سبب افزایش پایداری غشا سلولی می‌شود (Zarei *et al.*, 2020). در پژوهشی تیمار میوه هلو با ۵ میلی‌مولار گابا به مدت ۱۰ دقیقه منجر به کاهش آسیب‌های سرمازدگی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز شده است (Yang *et al.*, 2011a) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. احتمالاً کاربرد خارجی گابا با افزایش میزان دفاع آنتی‌اکسیدانی (افزایش فعالیت آنزیم‌ها) و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن باعث حفظ ساختار غشاهای سلولی و کاهش نشت یونی شده باشد. گزارش شده است که گابا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که ثبات غشا سلولی را در برابر اثرات زیان‌آور گونه‌های اکسیژن فعال حفاظت می‌کند (Mittler, 2002). در مطالعه‌ای Wang و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده کردند میزان نشت یونی طی دوره انبار سرد در میوه موز افزایش پیدا کرد ولی میوه‌های تیمار شده با گابا دارای میزان نشت‌یونی کمتری نسبت به نمونه‌های شاهد بودند. در گزارشی دیگر تیمار گابا میزان نشت یونی، شاخص سرمازدگی و قهوه‌ای شدن اسپات را در گل‌های شاخه بریده آنتوریوم نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش داد (Soleimani Aghdam *et al.*, 2015).

در شرایط بروز تنش سرما گونه‌ها اکسیژن فعال باعث پراکسیداسیون چربی‌های غشای سلولی شده و رادیکال‌های پراکسی و هیدروپراکسی تولید می‌شود. رادیکال‌های جدید تولید شده می‌توانند واکنش‌های اکسیداسیون لیپیدها را افزایش داده و منجر به افزایش تولید مالون‌دی‌آلدهید (شاخص پراکسیداسیون چربی) شود. تداوم این امر موجب تخریب بیشتر غشا سلول و خروج آب و مواد محلول از درون سلول از درون سلول به فضای بین سلولی شده که نتیجه این وضعیت، بروز پدیده آب گز شدن (Water core) و افزایش نشت یونی است و در نهایت منجر به کاهش توانایی سلول‌ها برای حفظ آب و کاهش محتوای آب برگ خواهد شد (Bahadoori *et al.*, 2016). Yadeghari و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند تحت تنش سرما فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن و محتوای مالون دی آلدهید بطور معنی‌داری در گیاه لوبیا افزایش می‌یابد و بین این دو شاخص همبستگی وجود دارد. در پژوهش حاضر احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش تولید مالون دی آلدهید در گیاهچه‌های هندوانه شده است.

یکی از پاسخ‌های شناخته شده گیاهان به تنش‌های مختلف محیطی تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین، است. در بسیاری از گیاهان پرولین آزاد در پاسخ به بروز انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی تجمع می‌یابد که از مهم‌ترین مکانیسم‌های فعال در تحمل به تنش‌های محیطی بخصوص تنش سرما شناخته شده است. افزایش پرولین به حفظ تورم و کاهش خسارت غشا در گیاهان منجر می‌شود. بدین ترتیب، با روش تنظیم اسمزی تحمل به تنش افزایش می‌یابد. القای سنتز پرولیناز نخستین پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی محسوب می‌شود. در بین اسیدهای آمینه پرولین حساسیت بیشتری به تنش‌های محیطی نشان می‌دهد. افزایش تجمع پرولین درون سلولی باعث سازگاری بیشتر سلول با شرایط تنش و حفاظت از آنزیم‌های سیتوزول و ساختارهای سلول و حفظ pH سلولی می‌شود (Mohammadi *et al.*, 2020;

2021). Habibi و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که پرولین یکی از عوامل اصلی تحمل به یخ زدگی در گیاهان است. Mohammadi و همکاران (۲۰۲۰ و ۲۰۲۳) گزارش کردند که یکی از مسیرهای افزایش پرولین درون سلول‌های گیاهی آزاد شدن آن به درون بافت به دلیل تخریب پروتئین‌ها است. احتمالاً در پژوهش حاضر کاهش خسارت سرمازدگی توسط تیمارهای گابا باعث حفظ ساختار پروتئین‌ها و کاهش تجمع پرولین درون سلول‌ها در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد شده است.



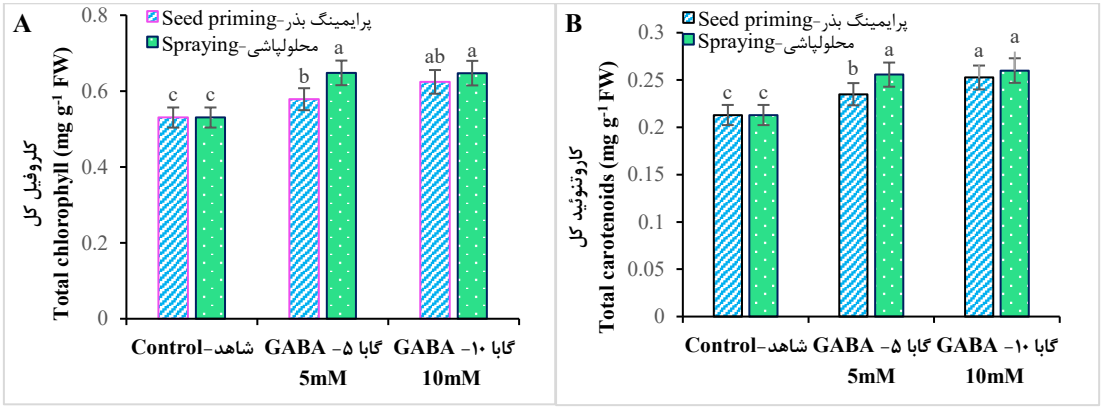
شکل ۳-اثر گابا بر میزان نشت یونی (A)، محتوای پرولین (B) و محتوای مالون دی آلدهید (C) در گیاهچه‌های هندوانه تحت تنش سرمایی (میانگین‌های±انحراف معیار که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی فاقد اختلاف معنی‌داری می‌باشند).

Figure 3- The effect of GABA on the amount of ion leakage (A), proline content (B) and malondialdehyde content (C) in watermelon seedlings under cold stress (Means ± standard deviations that have at least one letter in common have no statistically significant difference at the 5% probability level of Tukey's test).

محتوای کلروفیل و کاروتنوئید کل

بررسی محتوای کلروفیل کل و کارتنوئید کل نشان داد که مقدار این دو شاخص تحت تاثیر تیمارهای گابا افزایش یافت. در این نتایج اگرچه تیمارهای محلول-پاشی نسبت به پرایمینگ محتوای کلروفیل را بیشتر افزایش دادند ولی در هردو روش کاربرد بین غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل A.۴). نتایج مربوط به محتوای کارتنوئید نیز نشان داد تیمارهای گابا باعث افزایش این شاخص در گیاهچه‌های هندوانه شد بطوریکه تیمارهای محلول-پاشی ۱۰ و ۵ میلی‌مولار و تیمار پرایمینگ ۱۰ میلی-مولار بدون اختلاف معنی‌دار با همدیگر دارای بیشترین محتوای کاروتنوئید کل بودند. پس از آن‌ها تیمار پرایمینگ ۵ میلی‌مولار دارای محتوای کارتنوئید بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد بود (شکل B.۴). در پژوهش حاضر احتمالاً مقدار بیشتر کلروفیل در گیاهان تیمار شده با گابا به دلیل کاهش تخریب آن

به دلیل تعدیل اثرات مضر تنش سرما باشد که در نهایت موجب افزایش فتوسنتز و افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهچه‌های هندوانه شده است. همچنین گزارش شده است کاربرد خارجی گابا رشد گیاهان را با افزایش مقاومت به تنش‌ها و تنظیم فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم اولیه نیتروژن و جذب نیترات (Barbosa *et al.*, 2010)، افزایش تجمع اسید آمینه آلانین در مقابل آسیب تنش (Miyashita & Good, 2008) و ممانعت از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از مرگ سلولی بهبود می‌دهد (Bouche *et al.*, 2003). در پژوهش‌های مشابه گابا علاوه بر بهبود صفات عملکردی موجب افزایش جذب و انتقال بیان ژن انتقال نیترات در گیاه کلزا تیمار شده نسبت به شاهد شد (Lancien & Roberts, 2006). مطابق با نتایج حاضر، کاربرد خارجی گابا به طور معنی‌داری رشد مورفولوژیکی گیاهان ذرت (Li *et al.*, 2016) و خیار را بهبود و عملکرد آن‌ها را افزایش داد (Saidi *et al.*, 2020). در پژوهش حاضر احتمالاً کاربرد گابا با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش خسارت سرمازدگی و افزایش محتوای کاروتنوئید در شرایط تنش نسبت به نمونه‌های شاهد شده است. گابا سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی و کارتنوئیدها را از طرق نقش سیگنالی خود تحریک می‌کند و می‌تواند موجب افزایش میزان کلروفیل یا جلوگیری از تخریب آن در شرایط بروز تنش شود. در نتیجه عملکرد سیستم فتوسنتز را افزایش و رشد و نمو گیاه را بهبود می‌دهد (Song *et al.*, 2010). کاربرد گابا در گوجه‌فرنگی تحت اعمال تنش شوری با افزایش محتوای کاروتنوئید، قندهای محلول کل، پرولین، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز نسبت به شاهد همراه بود (Zarei *et al.*, 2020).



شکل ۴- اثر گابا بر محتوای کلروفیل کل (A) و محتوای کاروتنوئید برگ (B) در گیاهچه‌های هندوانه تحت تنش سرمایی (میانگین‌های±انحراف معیار که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی فاقد اختلاف معنی‌داری می‌باشند).

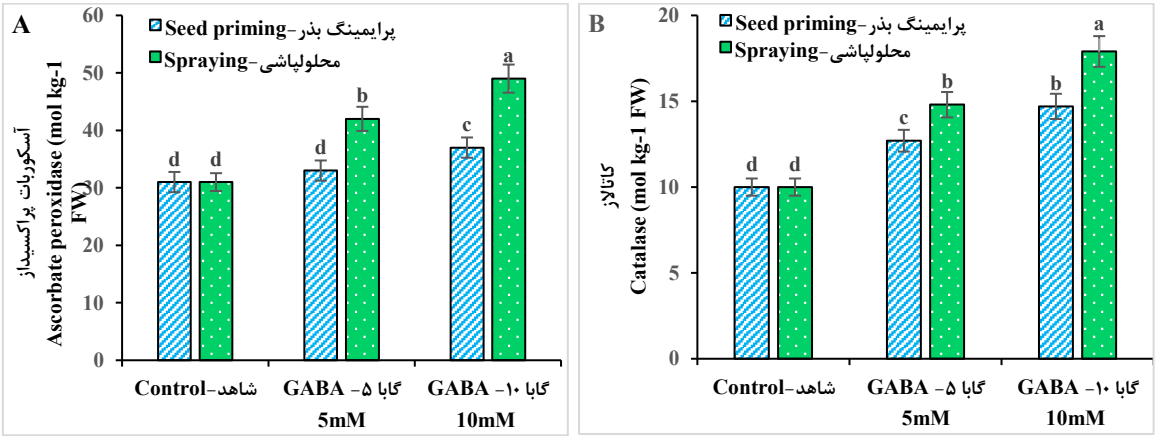
Figure 4- The effect of GABA on total chlorophyll (A) and carotenoid content (B) in watermelon seedlings under cold stress (Means ± standard deviations that have at least one letter in common have no statistically significant difference at the 5% probability level of Tukey's test).

فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز

نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز تحت اثر تیمارهای گابا افزایش یافت بطوریکه بیشترین و کمترین فعالیت این آنزیم‌ها به ترتیب در تیمار محلول‌پاشی گابا ۱۰ میلی‌مولار و نمونه‌های شاهد مشاهده شد. این نتایج نشان داد که کاربرد محلول‌پاشی بهتر از پرایمینگ بذر بود و اثر غلظت ۱۰ میلی‌مولار در هردو روش کاربرد بهتر از غلظت ۵ میلی‌مولار بود (شکل ۵).

در شرایط تنش دمای پایین به‌علت تولید رایکال‌های آزاد اکسیژن در محیط سلول، احتمال وقوع تنش اکسیداتیو (به عنوان تنش ثانویه) وجود دارد که باعث اختلال در عمل فیزیولوژیک سلول می‌شود. گیاهان برای خنثی کردن اثر سمی گونه‌های فعال

اکسیژن، از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و یا افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند (Bahadoori *et al.*, 2016; Eghlima *et al.*, 2023). احتمالاً کاربرد گابا با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز توان آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های تیمار شده را بهبود می‌دهد که از این طریق با زدون گونه‌های فعال اکسیژن از تخریب غشای سلولی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌کند، در نتیجه با کاهش خسارت به غشای سلولی و نشت یونی باعث کاهش خسارت تنش و علائم سرمازدگی در گیاهچه‌های هندوانه می‌شود. استفاده از تیمار گابا در گیاه چچم چندساله تحت تنش خشکی باعث بهبود صفات مورد مطالعه از جمله افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان شد که در این میان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قابل توجه بود (Krishnan *et al.*, 2013; Azizpanah *et al.*, 2023). در پژوهشی بر روی گیاه چای مشاهده شد در فرآوری برگ چای در شرایط بی‌هوازی مقدار گابا افزایش یافته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و جذب رادیکال‌های آزاد به طور قابل توجهی ارتقاء یافت (Kim & Kim, 2012). همچنین در پژوهشی مشابه کاربرد گابا در بوته‌های گندم تحت اعمال تنش سرما، فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی تقویت شد و آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش سرمایی کاهش و صفات کیفی گیاهان بهبود یافت (Malekzadeh *et al.*, 2012).



شکل ۵-اثر گابا بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (A) و کاتالاز (B) در گیاهچه‌های هندوانه تحت تنش سرمایی (میانگین‌های±انحراف معیار که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی فاقد اختلاف معنی‌داری می‌باشند).

Figure 5- The effect of GABA on the activity of ascorbate peroxidase (A) and catalase (B) enzymes in watermelon seedlings under cold stress (Means ± standard deviations that have at least one letter in common have no statistically significant difference at the 5% probability level of Tukey's test).

نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر نشان داد که نگهداری گیاهچه‌های هندوانه تحت تنش سرمایی باعث بروز علائم سرمازدگی و کاهش کیفیت ظاهری گیاهچه‌ها می‌شود ولی کاربرد خارجی گابا باعث تعدیل خسارت سرمازدگی و بهبود کیفیت گیاهچه‌ها نسبت به نمونه‌های شاهد شد. در این پژوهش کاربرد برگی گابا مؤثرتر از پرایمینگ بذر بود و غلظت ۱۰ میلی‌مولار بهتر از ۵ میلی‌مولار در هر دو روش کاربرد کیفیت گیاهچه‌ها را حفظ کرد. بنابراین براساس نتایج حاضر استفاده از محلول‌پاشی گابا ۱۰ میلی‌مولار به عنوان یک راهکار کاربردی در جلوگیری از بروز خسارت در گیاهچه‌های هندوانه رقم "Orangeglo" تحت تنش سرمایی توصیه می‌گردد.

References

Ali, M.M., Ashraffuzaman, M., Ismail, M.R., Shahidullah, S.M. & Prodhan, A.K.M.A. (2010). Influence of foliar applied gaba on growth and yield contributing characters of white gourd (*Benincasa hispida*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 12, 373–376.

Amooaghaie, R. & Shariat, E. (2014). Effect of cultivar, cold and paclobutrazol on growth, chlorophyll content and cell membrane injury in *Phaseolus vulgaris* plantlet. *Journal of Plant Biological Sciences*, 6 (22), 77-90.

Aragao, F.A., Torres Filho, J., Nunes, GH., Queiroz, M.A., Bordallo, P.N., Buso, G.S., Ferreira, M.A., Costa, Z.P. & Bezerra Neto, F. (2013). Genetic divergence among accessions of melon from traditional agriculture of the Brazilian Northeast. *Genet Mol Res.*12(4):6356-71. doi:10.4238/2013.December.6.3

Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.

Ashraf, M. & Foolad., M.A. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 59(2): 206-216.

Azizpanah, A., Aliakbari, M. Mirzaee, K., Mohammadi, M., Ranjbar, M.E. & Azizpanah, A. (2023). Maintaining the quality and increasing shelf life of button mushroom by using essential oil of some medicinal plants in packaging containers. *Journal of Vegetables Sciences*, 7(1), 131-147. doi:10.22034/iuvs.2023.1995797.1274

Barbosa, J.M., Singh, N.K., Cherry, J.H. & Locy, R.D. (2010). Nitrate uptake and utilization is modulated by exogenous γ-aminobutyric acid in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(6), 443-450.

Bahadoori, S., Esmaielpour, B., Heidari, M., Khorramdel, S., Shiekhzadeh, P. & Tavakoli-pour, N. (2016). Effects of seed priming with plant growth regulators on physiological and biochemical characteristics of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) under low temperature stress. *Plant Process and Function*, 5 (17), 145-156.

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.

Bouche, N., Fait, A., Bouchez, D., Moller, S.G., Fromm, H. (2003). Mitochondrial succinic-semialdehyde dehydrogenase of the γ-aminobutyrate shunt is required to restrict levels of reactive oxygen intermediates in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(11), 6843-6848.

Eghlima, Gh., Mohammadi, M. & Najafi Sisakht, M. (2023). The influence of biochar application on seed germination indices and growth parameters of *Satureja khuzistanica* Jamzad seedlings. *Journal of Vegetables Sciences*, 7(2), 93-106. doi:10.22034/iuvs.2023.2013619.1323

Fait, A., Fromm, H., Walter, D., Galili, G. & Fernie, A. (2008). Highway or byway: the metabolic role of the GABA shunt in plants. *Trends in Plant Science*, 13(1), 9-14.

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. doi:10.1080/15228860802087297

Habibi, F., Normahamadi, G.H., Heidary, S.A.H., Eivazi, A., & Majidi, H.E. (2011). Effect of cold stress on cell membrane stability, chlorophyll a and b contain and proline accumulation in wheat (*Triticum aiestivum* L.) variety. *African Journal of Agricultural Research*, 6(27), 5854-5859.

Hu., X., Xu., Zh., Xu., w., Li., J. , Zhao., N., Zhou, Y. (2015). Application of g-aminobutyric acid demonstrates a protective role of polyamine and GABA metabolism in muskmelon seedlings

under Ca $(NO_3)_2$ stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 92, 1–10.

Kim, J.H. & Kim, M. Y. (2012). Enhancement of bioactive components content and the antioxidant activity of green tea after continuous anaerobic incubation. *Journal of Agricultural Science and Technology*,14, 837-844.

Krishnan, S., Laskowski, K., Shukla, V. & Merewitz, E.B. (2013). Mitigation of drought stress damage by exogenous application of a non-protein amino acid γ–aminobutyric acid on perennial ryegrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 138(5), 358-366.

Lancien, M. & Roberts, M.R. (2006). Regulation of Arabidopsis thaliana 14-3-3 gene expression by γ-aminobutyric acid. *Plant, cell & environment,* 29(7), 1430-1436.

Li, W., Liu, J., Ashraf, U., Li, G., Li, Y., Lu, W., Gao, L., Han, F. & Hu, J. (2016). Exogenous γ-aminobutyric acid (GABA) application improved early growth, net photosynthesis, and associated physio-biochemical events in maize. *Frontiers Plant Science*, 7, (919), 1-13.

Lutts, S. (2000). Exogenous glycinebetaine reduces sodium accumulation in salt-stressed rice plants. *International Rice Research Notes,* 25(2), 39-40.

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.

Mazzucotelli, E., Tartari, A., Cattivelli, L. & Forlan, G., (2006). Metabolism of aminobutyric acid during cold acclimation and freezing and its relationship to frost tolerance in barley and wheat. *Journal of Experimental Botany*, 57(14), 3755–3766.

Miyashita, Y. & Good, A.G. (2008). Contribution of the GABA shunt to hypoxia-induced alanine accumulation in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 49(1), 92-102.

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science*, 7, 405–410.

Mohammadi, M., Eghlima, Gh. & Ranjbar, M.E. (2023). Ascorbic acid reduces chilling injury in anthurium cut flowers during cold storage by increasing salicylic acid biosynthesis. *Postharvest Biology Technology*, 201, 112359. doi:10.1016/j.postharvbio.2023.112359

Mohammadi, M., Aelaei, M. & Saidi, M. (2021). Pre-harvest spray of GABA and spermine delays postharvest senescence and alleviates chilling injury of gerbera cut flowers during cold storage. *Scientific Reports*, 11, 14166. doi:10.1038/s41598-021-93377-4

Mohammadi, M., Aelaei, M., & Saidi, M. (2020). Pre-harvest and pulse treatments of spermine, γ-and β-aminobutyric acid increased antioxidant activities and extended the vase life of gerbera cut flowers 'Stanza' . *Ornamental Horticulture*, *26*, 306-316. doi:10.1590/2447-536x.v26i2.2120

Obinger, C., Maj, M., Nicholls, P. & Loewen, P. (1997). Activity, peroxide compound formation, and heme d synthesis in *Escherichia coli* HPII catalase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 342, 58-67.

Radhakrishnan, R., Lee, I.J., Aziz, I., Mahmood, T., Islam, K.R., Anjun, T., Martins, J.P.R., Schmildt, E.R., Alexandre, R.S., De Castro, E.M. & Nani, T.F. (2014). Endogenous antioxidants and phytohormonal regulation induced by spermidine improve cucumber plant growth. *Pakistan Journal of Botany*, 46(6), 2151-2156.

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.

Saidi, M., Aliakbary, K. Hasanbeigi, H. & Mohammadi, M. (2020). The effect of

gaba in induction of chilling resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Journal of Vegetables Sciences*, 3(2), 1-14. doi:10.22034/iuvs.2020.115370.1072

Saydpour, F., Sayyari, M. & Ghanbari, F. (2015). Effect of glycine betaine on chilling tolerance of cucumber seedlings. *Journal of Crops Improvement*, 17(1), 53-67. doi:10.22059/jci.2015.54788

Sanghera, G.S., Wani, S.H., Hussain, W. & Singh, N.B. (2011). Engineering cold stress tolerance in crop plants. *Current genomics*, 12(1), 30-43.

Shelp, B.J., Bozzo, G.G., Trobacher, C.P., Zarei, A., Deyman, K.L. & Brikis, C.J. (2012). Contribution of putrescine to γ-aminobutyrate (GABA) production in response to abiotic stress. *Plant Science*, 193-194, 130-135.

Song, H., Xu, X., Wang, H., Wang, H. & Tao, Y. (2010). Exogenous γ-aminobutyric acid alleviates oxidative damage caused by aluminium and proton stresses on barley seedlings. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(9), 1410-1416.

Soleimani Aghdam, M., Naderi, R., Askari Sarcheshmeh, M. & Babalar, M. (2015). Amelioration of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by γ-aminobutyric acid (GABA) treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 70–76.

Thomas, H. (1990). Osmotic adjustment in lolium perenne: its heritability and the nature of solute accumulation. *Annals of Botany*, 66, 521-530.

Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, S., Ruixue Du, R. (2014). Effect of exogenous γ-aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. *Scientia Horticulturae*, 168, 132-137.

Xia, Q., Gao, H. & Li, J. (2011). Effects of gamma-aminobutyric acid on the photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of muskmelon seedlings under hypoxia stress. *Europe PubMed Central*, 22(4), 999-1006.

Yadav, S.K. (2010). Cold stress tolerance mechanisms in plants. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(3), 515-527.

Yadeghari. L.Z., Heidari, R. & Carapetian, J. (2008). The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyd (MDA), Total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Research Journal of Biological Sciences*, 3(1), 74-79. doi:10.3923/jbs.2007.1436.1441

Yang, A., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y. & Zheng, Y. (2011a). γ-Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defence response of peach fruit. *Food Chemistry*, 129, 1619-1622.

Yang, H., Wu, F. & Cheng, J. (2011b). Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and the antioxidant response. *Food chemistry*, 127(3), 1237-1242.

Zarei, L. Koushesh Saba, M. & Vafaee, Y. (2020) Effect of Gamma-Amino-Butyric Acid (GABA) Foliar application on chilling and postharvest quality of tomato (cv. Newton)". *Plant Productions*, 43 (2), 199-212. doi:10.22055/ppd.2020.27796.1681

Zhang ,W., Jiang, B., Li, W., Song, H., Yu, Y. & Chen, J. (2009). Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating antioxidative system. *Scientia Horticulturae*, 122, 200-208.

Zheng, X.L., Tian, S.P., Xu, Y. & Li, B.Q. (2005). Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at controlled atmosphere. *Journal of Fruit Science*. 22(4), 351-355.