مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۱ شماره ۳ صفحه‌های ۳۳۱ تا ۳۴۲ (۱۳۹۹)
مقاله پژوهشی

اثرهای محلول‌پاشی برگی گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) بر ویژگی‌های زیست شیمیایی و فیزیولوژیک انگور در تنش سرما[1]

Effects of Gamma Aminobutyric Acid (GABA) Foliar Application on Biochemical and Physiological Properties of Grapevine under Cold Stress

بهاره قربانی، حمید حسن پور* و مراد جعفری[2]

چکیده

تنش سرما، از مهم‌ترین علل کاهش تولید محصول‌های کشاورزی بوده و همه ساله خسارت‌های زیادی به همراه دارد. به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) روی ویژگی‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی و بهبود تحمل به سرمای دو رقم انگور (بیدانه سفید و حسینی)، پژوهشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در دانشگاه ارومیه انجام شد. در این آزمایش در مرحله ۱۰ تا ۱۵ برگی، GABA در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار روی دو رقم بیدانه سفید و حسینی محلول‌پاشی شد. سپس نهال‌های تیمارشده در اتاقک رشد با دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند و در پنج نوبت سرمادهی (صفر، ۳، ۶ ، ۱۲ و ۲۴ ساعت) شدند. نتیجه‌ها نشان داد که GABA با غلظت ۶۰ میلی‌مولار، ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش در مقایسه با دیگر تیمارها در هر دو رقم بیشترین اثر مثبت را در مقابله با اثرهای سوء سرما داشت. همچنین، بیشترین میزان کربوهیدرات محلول، فنول‌کل، محتوای پرولین و نیز کمترین میزان پراکسیداسیون لیپید غشاء پس از ۱۲ و ۲۴ ساعت رویارویی با تنش‌سرما و در رقم حسینی ثبت گردید. استفاده از این ترکیب باعث افزایش پیام‌دهی گیاه شده و با حذف رادیکال‌های آزاد مانع از بروز خسارت‌های سنگین در طول تنش می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون لیپیدی، پرولین، محلول‌پاشی برگی.

مقدمه

عوامل تنش‌زای محیطی از نگرانی‌های جدی در کاهش تولید محصول‌های کشاورزی به‌حساب می‌آیند. تنش سرما تاثیر شدیدی بر رشد، نمو و بقای گیاهان دارد (۳۵). تنش سرما همانند بسیاری دیگر از تنش‌ها موجب بروز اختلال در سوخت و ساز گیاه و افزایش تولید انواع رادیکال‌های آزاد می‌گردد، این رادیکال‌ها می‌توانند با اکسیدکردن مولکول‌های زیستی همچون چربی‌ها، پروتئین‌ها و غیره موجب بروز خسارت یاخته‌ای گردند و نوعی تنش ثانویه را برگیاه تحمیل نمایند. عدم تحمل به سرما یکی از عوامل اصلی کاهش تولید محصول می‌باشد. گیاهان وقتی در معرض دماهای پائین قرار می‌گیرند جهت سازگاری خود با تنش و افزایش تحمل به سرما، بسیاری از تغییرهای فیزیولوژیکی و زیست شیمیایی را در خود ایجاد می‌نمایند (۳۴).

انگور[3] یکی از محصول‌های مهم دنیا و ایران است. انگور پس از سیب رتبه دوم تولید را در دنیا دارد (۵) و به همین دلیل تنش‌سرما می‌تواند آسیب و زیان‌های اقتصادی شدیدی به تاک‌داران وارد کند. خطر سرمازدگی شاخه‌های سبز و خوشه‌های گل

۱- تاریخ دریافت: ۹۹/۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۹/۴/۹

۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار گروه علوم باغبانی و دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (*ha.hassanpour@urmia.ac.ir - *Phhassanpour@gmail.com).

۳- *Vitis vinifera*

انگور در ابتدای فصل رشد در بیشتر رقم‌های تجاری انگور وجود دارد. تنش سرما همانند بسیاری از تنش‌ها سبب اختلال در فرآیندهای رشدی گیاهان می‌شود. سرمای زودرس پائیزه و سرمای دیررس بهاره از عوامل محدودکننده کشت، پرورش و تولید محصول‌های باغبانی می‌باشند (۱۴). کاهش دما در شب هنگام و اوایل بهار به ویژه اگر همزمان با بازشدن جوانه‌ها و گل‌ها باشد، گاه خسارت‌های قابل توجهی بر انگور (۲) و سایر گیاهان برجای می‌گذارد. بیشتر درختان میوه مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری و حتی معتدله، در معرض خسارت‌های ناشی از یخبندان و سرمای زمستان حتی اوایل بهار قرار می‌گیرند (۳۶). روش‌های مختلفی جهت کاهش خسارت‌های ناشی از تنش مانند استفاده از ارقام مناسب (۲۰)، بخاری‌ها، غرقاب کردن، آبیاری بارانی و حرکت مصنوعی هوا به وسیله ماشین تولید باد وجود دارد، اما یکی از روش‌ها مرسوم استفاده از ترکیب‌های هورمونی و غیرهورمونی برای مقابله با اثرهای نامطلوب حاصل از تنش است. کاربرد گاما آمینوبوتیریک اسید[1]به‌صورت محلول‌پاشی برگی می‌تواند تا حدودی در کاهش خسارت‌های ناشی از تنش سرما در باغ‌ها نقش داشته باشد. گاماآمینوبوتیریک اسید یک آمینو اسید غیرپروتئینه چهارکربنه در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها می‌باشد، متابولیسم این ترکیب از راه یک مسیر به نام شانت گاماآمینوبوتیریک اسید انجام می‌گیرد و به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان در گیاهان عمل می‌کند. مشخص شده که تشکیل آن در بسیاری از گیاهان عالی اتفاق می‌افتد و کاربرد آن در پاسخ به شرایط تنش‌زای محیطی می‌باشد (۱۶). محلول‌پاشی با گاماآمینوبوتیریک اسید در کاهش اثرهای تنش شوری روی بوته توت‌فرنگی (۷) و نیز در کاهش آسیب سرمایی روی میوه هلو (۳۶)، پرتقال (۸) و میوه موز (۳۳) نیز گزارش شده است. کاربرد این اسید آمینه می‌تواند منجر به بهبود رشد گیاه، افزایش تحمل به تنش از راه تغییر فعالیت آنزیمی در مسیرهای سوخت و ساز نیتروژن، افزایش انباشت آلانین و محافظ در برابر تنش‌ها و مرگ یاخته‌ای شود. کاربرد گاماآمینوبوتیریک اسید در مقابله با انواع تنش‌های غیرزنده به اثبات رسیده است و متابولیت‌های گیاهی مانند قند و اسید آمینه را زیر تاثیر قرار می‌دهد و کاربرد خارجی آن ممکن است تحمل به تنش را از راه افزایش ساخت اسپرمین و اسپرمیدین بهبود بخشد (۱۷). با توجه به اینکه سرما بسیار سریع عمل کرده و می‌تواند در مدت زمان اندکی صدمه‌ها و خسارت‌های فراوانی به درختان و باغ‌ها وارد آورد، اهمیت این موضوع سبب شد پژوهشی پیرامون تاثیرگاما آمینوبوتیریک اسید بر ارقام بیدانه سفید و حسینی انگور زیر تنش سرما، صورت پذیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال۱۳۹۷ در گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام پذیرفت. نهال‌های انگور بعد از گذراندن مرحله خواب در گلخانه با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مرحله ۱۰ الی ۱۵ برگی رسیدند. سپس برای آزمایش اول، محلول‌پاشی گاما آمینوبوتیریک اسید به‌صورت یک مرحله در ۱۰ الی ۱۵ برگی نهال انگور و در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار روی دو رقم (بیدانه سفید و حسینی) از تاک‌های دوساله گلدانی صورت گرفت. یک هفته پس از اعمال تیمار، نهال‌های تیمار شده با گاما آمینوبوتیریک اسید وارد اتاقک رشد شده و با تحمل دمای ۴ درجه سلسیوس در پنج سطح سرمادهی به ترتیب صفر، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت نمونه‌برداری از برگ‌های جوان به‌طورکامل توسعه یافته صورت پذیرفت و نمونه‌های برگی پس از برداشت، در نیتروژن مایع منجمد شده و به فریزر ۸۰- درجه سلسیوس آزمایشگاه علوم باغبانی منتقل شدند.

سنجش فنول‌کل

برای ارزیابی فنول‌کل از روش Singleton و Slinkard (۲۷) استفاده گردید. ابتدا ۳۰ میکرولیتر از عصاره متانولی تهیه شده به داخل ویال ریخته شد و سپس روی آن ۹۰ میکرولیتر آب و ۶۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالته ۱۰ ٪ اضافه گردید، پس از گذشت ۱۰ دقیقه، ۴۸۰ میکرولیتر کربنات سدیم به آن اضافه شد. در پایان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با اسپکتروفوتومتر (مدل Pharmacia LKB. Novaspec II) قرائت شد و نتیجه‌ها بر اساس میلی‌گرم بر صد گرم معادل اسید گالیک بیان شدند.

۱- γ-aminobutyric acid (GABA)

سنجش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش فرپ[1] ابتدا بافر فرپ از طریق مخلوط کردن ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات، ۲/۵میلی‌لیتر TPTZ [2] و ۲/۵ میلی‌لیترکلرید آهن آماده شد. سپس ۳ میلی‌لیتر محلول فرپ با ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره مخلوط گردید و بعد از ۳۰ دقیقه قرار گیری در حمام آب ۳۷ درجه سانتیگراد، توسط اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۹۳ نانومتر برحسب میلی‌گرم آهن بر صد گرم وزن‌تر خوانده شد (۱).

سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء

مقادیر مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از روش Heath و Packer (۹) اندازه‌گیری شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شده و از جذب نمونه در طول موج ۵۳۲ نانومتر کسر گردید و میزان مالون‌دی‌آلدهید برحسب میکرومول بر گرم وزن تر با استفاده از معادله زیر محاسبه شد، ضریب خاموشی معادل $155\ mM^{-1}cm^{-1}$ می‌باشد.

MDA (µmol/g FW)= [A532-A600/155]×1000

تهیه عصاره گیاهی برای تعیین میزان کربوهیدرات محلول و سنجش پرولین

ابتدا ۰/۵گرم برگ انگور را در هاون چینی پودر کرده و به آن ۵ سی‌سی اتانول ۹۵٪ اضافه گردید. سپس محلول رویی را در لوله آزمایش ریخته و جهت حذف ناخالصی آن دوباره با اضافه کردن ۵ سی‌سی اتانول۷۰٪ به طور کامل ساییده و به محتویات لوله آزمایش اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور ناخالصی‌های آن به طور دقیق جدا گردید. این عصاره پایه برای اندازه‌گیری پرولین و کربوهیدرات محلول مورد استفاده قرار گرفت (۱۱).

سنجش میزان کربوهیدرات محلول

برای این منظور، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی تهیه شده به داخل لوله آزمایش ریخته شده و به آن سه میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده اضافه گردید. سپس لوله‌های آزمایش به مدت۱۰ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. در نهایت جذب نمونه‌ها بوسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شده و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیان شد (۱۱).

سنجش پرولین

برای این منظور، از ۰/۱ میلی لیتر عصاره الکلی تهیه شده استفاده گردید و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر خوانده شده و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیان گردید (۲۱).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز وگایاکول پراکسیداز

برای تهیه عصاره گیاهی جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز از روش Saltiveit و Kang (۱۳) استفاده شد. برای این منظور به ۰/۵گرم بافت برگی، ۱/۵ سی‌سی بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار حاوی ۲ درصد PVP و ۱/۳ میلی‌مولار EDTA افزوده شد و پس از ورتکس، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و محلول رویی برای سنجش آنزیم استفاده شد.

سنجش فعالیت‌آنزیم‌کاتالاز

سنجش فعالیت کاتالاز براساس مصرف پراکسید هیدروژن در واکنش و کاهش جذب نوری در مدت ۶۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم برحسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد (۴).

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

فعالیت این آنزیم براساس اکسیداسیون اسید آسوربیک و کاهش جذب در۲۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم برحسب میکرومول برگرم وزن تر گزارش گردید (۱۹).

۱- Ferric Reducing Antioxidant Power

۲- 2, 4, 6 Tripyridyl-s-Triazin (TPTZ)

سنجش فعالیت‌آنزیم‌گایاکول پراکسیداز

جهت سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از روش Upadhyay و همکاران (۳۰) استفاده شد. جذب گایاکول اکسید شده با اسپکترو فتومتر در مدت یک دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر محاسبه و فعالیت آنزیم برحسب میکرومول برگرم وزن‌تر گزارش شد.

واکاوی داده‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری به طور کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد و همبستگی و برهمکنش بین داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴) انجام گرفت و برای واکاوی آماری و رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل نسخه (۲۰۱۶) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۱٪ ارزیابی شدند.

نتایج و بحث

فنول‌کل

براساس نتیجه‌های به‌دست آمده مشاهده گردید برهمکنش محلول‌پاشی سطوح مختلف گاما آمینوبوتیریک اسید، رقم و زمان نمونه‌برداری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار گردید و نتیجه‌های مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین محتوای فنول‌کل مربوط به تیمار۶۰ میلی‌مولار گاماآمینوبوتیریک اسید در رقم بیدانه سفید پس از تحمل ۲۴ ساعت سرما بود (شکل ۱). تیمار گاماآمینوبوتیریک اسید مورد استفاده در تمامی غلظت‌ها نسبت به شاهد توانست سطح تولید ترکیب‌های فنولی را افزایش دهد، به‌طوری که انگور رقم بیدانه سفید (نیمه متحمل) نسبت به رقم حسینی (حساس) بیشترین میزان تولید ترکیب‌های فنول را دارا بود. ترکیب‌های فنولی با ویژگی آنتی‌اکسیدانی قادر به مهار رادیکال‌های آزاد و کاهش پراکسیداسیون غشای یاخته‌ای به منظور دفاع از یاخته‌های گیاهی در برابر تنش اکسایشی هستند، از این رو غلظت فنول‌ها در بافت گیاهی به عنوان یک شاخص خوب برای پیش‌بینی میزان تحمل به تنش‌های غیرزنده در گیاهان شناخته می‌شود (۲۵). در گیاهان، انباشت فنولی اغلب یک ویژگی ثابت زیر تنش است که نشان‌دهنده سازوکار دفاعی برای مقابله با تنش‌های غیرزنده چندگانه محسوب می‌شود و به طورکلی فنول کل زیر دمای پایین تجمع می‌یابد. این پاسخ حداکثر یک روز بعد تنش از طرف گیاه صورت می‌پذیرد که به احتمال سازوکاری برای غلبه به تنش سرما است. تنش سرما سبب تجمع ترکیب‌های فنولیک در گیاهان می‌گردد و در واقع سرما سبب افزایش ترکیب‌های فنولی و پلی‌فنول‌ها شده که این ترکیب‌های ضمن پاسخ به تنش‌ها به گیاهان کمک شایانی می‌کنند (۲۲). افزایش ترکیب‌های فنولی در اثر کاربرد گاماآمینوبوتریک اسید با توجه به ساختار ضد اکسایشی‌اشان می‌توانند در بهبود تحمل به سرما مفید واقع شوند.

کربوهیدرات محلول

براساس نتیجه‌های به‌دست آمده مشاهده گردید برهمکنش محلول‌پاشی سطوح مختلف گاما آمینوبوتیریک اسید، رقم و زمان نمونه‌برداری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار گردیده است و هم‌چنین نتیجه حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در تیمار۶۰ میلی‌مولار گاما آمینوبوتیریک اسید در زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت و در رقم بیدانه سفید نسبت به رقم حسینی بوده است و کمترین میزان کربوهیدرات در شاهد مشاهده گردید (شکل۲). دخالت تنگاتنگ کربوهیدرات محلول در تحمل به سرمازدگی به خوبی مشخص شده است و در بسیاری از گیاهان چوبی ارتباط بین غلظت کربوهیدرات و تحمل به سرما به اثبات رسیده است (۲۹)، گاماآمینوبوتیریک اسید می‌تواند متابولیت‌های گیاهی همچون قند و اسید آمینه را زیر تاثیر قرار دهد. کربوهیدرات‌های محلول به عنوان یک تنظیم‌کننده اسمز معرفی شده است که باعث استحکام غشاء در برابر آسیب‌های ناشی از تنش‌ها و کاهش نشت الکترولیت‌ها می‌شود (۱۰). گیاهان با از دست دادن تدریجی آب، غلظت مواد درونی از جمله میزان قندهای محلول را افزایش می‌دهند و به این ترتیب از آسیب حاصل از تنش سرمازدگی می‌کاهند (۶)، پژوهشگران گزارش کرده‌اند که بین میزان سرمازدگی و میزان قندهای محلول در بین رقم‌های انگور ارتباط معنی‌داری وجود دارد، به طوری که رقمی که دارای بیشترین میزان قندهای محلول بود، بیشترین میزان تحمل به سرما را در گذر زمان داشت (۲۴). افزایش غلظت گاماآمینوبوتریک اسید درونی در اثر کاربرد خارجی آن سبب فعال‌تر شدن چرخه TCA شده که در نهایت کربوهیدرات بیشتری

در این چرخه مصرف شده و غلظت کربوهیدرات‌های محلول در گیاه را کاهش می‌دهد. در بسیاری از گیاهان تنش سرما سبب افزایش قند محلول می‌گردد. (۲۸).

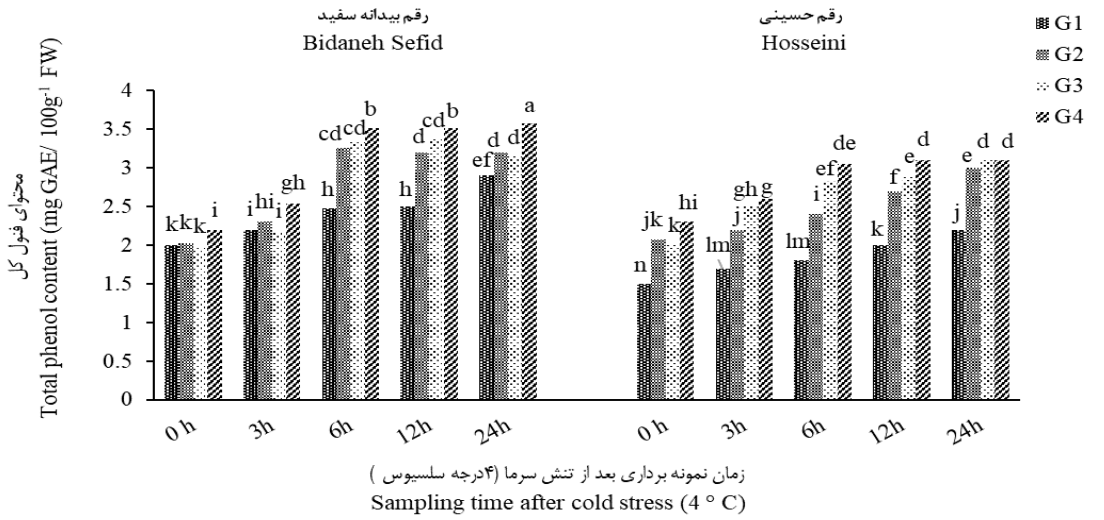

Fig. 1. Effects of gamma aminobutyric acid treatments on total phenol content of ‘Bidaneh Sefid’ and ‘Hosseini’ grapes under cold stress. G1: control, G2: 15 mM, G3: 30 mM, G4: 60 mM. Means with same letters are not significantly different at the 1% level of Duncan's multiple range test.

شکل ۱- اثرهای تیمارهای گاما آمینوبوتیریک اسید بر محتوای فنول‌کل رقم‌های انگور بیدانه سفید و حسینی زیر تنش سرما. G1: شاهد، G2: ۱۵میلی‌مولار، G3: ۳۰ میلی‌مولار، G4: ۶۰ میلی‌مولار. میانگین‌های دارای حرف‌های مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

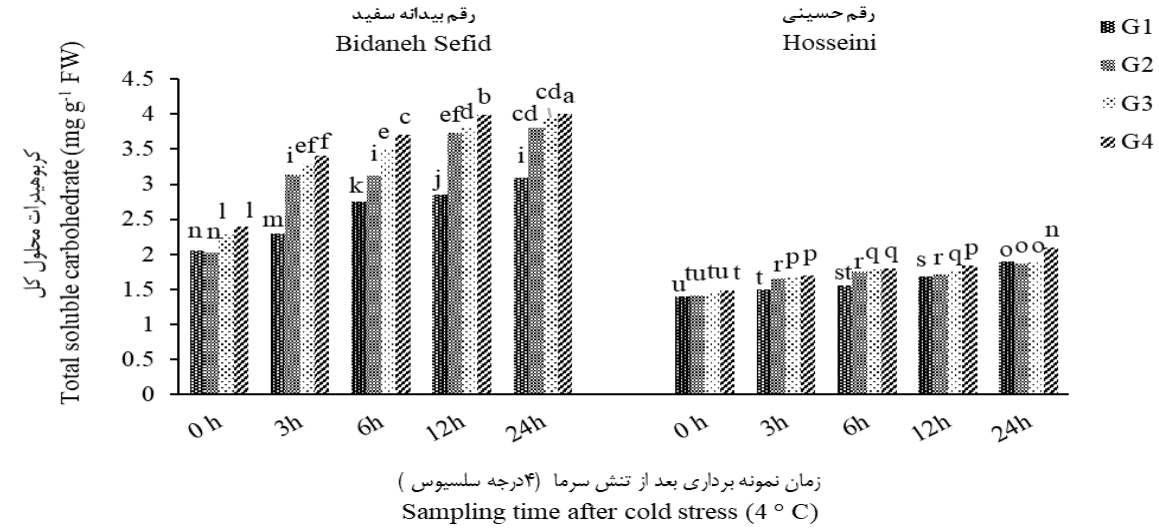

Fig. 2. Effects of gamma aminobutric acid treatments on carbohydrate content of ‘Bidaneh Sefid’ and ‘Hosseini’ grapes under cold stress. G1: control, G2: 15 mM, G3: 30 mM, G4: 60 mM. Means with the same letters are not significantly different at the 1% level of Duncan's multiple range test.

شکل۲- اثرهای تیمارهای گاماآمینوبوتیریک اسید بر میزان کربوهیدرات محلول کل در رقم‌های انگور بیدانه سفید و حسینی زیر تنش سرما. G1: شاهد، G2: ۱۵میلی‌مولار، G3: ۳۰ میلی‌مولار، G4: ۶۰ میلی‌مولار. میانگین‌های دارای حرف‌های مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (FRAP)

براساس نتیجه‌های به‌دست آمده مشاهده گردید برهمکنش محلول‌پاشی سطوح مختلف گاماآمینو بوتیریک اسید، رقم و زمان نمونه‌برداری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شده است و نتیجه‌های به‌دست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار ۶۰ میلی‌مولار گاماآمینوبوتیریک اسید نسبت به سایر تیمارها در رقم بیدانه سفید در زمان ۲۴ ساعت می‌باشد (شکل۳). انگور به علت داشتن اجزای آنتی‌اکسیدانی مانند فنول‌ها، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها زیر تنش سرما همراه با فرآیند سازگاری و تحمل به سرما افزایش پیدا می‌کند. انباشت ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر تنش سرما ارتباط مستقیمی با کاربرد گاماآمینوبوتیریک اسید دارد (۱۸)، تیمارگاماآمینوبوتیریک اسید ثبات غشای یاخته‌ای را در برابر اثرهای زیان‌آور گونه‌های فعال اکسیژن در تنش‌های محیطی حفاظت می‌کند و می‌تواند سطح آنتی‌اکسیدان‌ها را در یاخته گیاهی در خلال تنش‌ها بالا ببرد، به طوری‌که انباشت ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان نشانگر قدرتمند طی تنش بوده و می‌تواند با ایجاد تعادل در مقاومت اسمزی سیتوپلاسم زیر شرایط محیطی ناپایدار مهم باشد (۳۱).

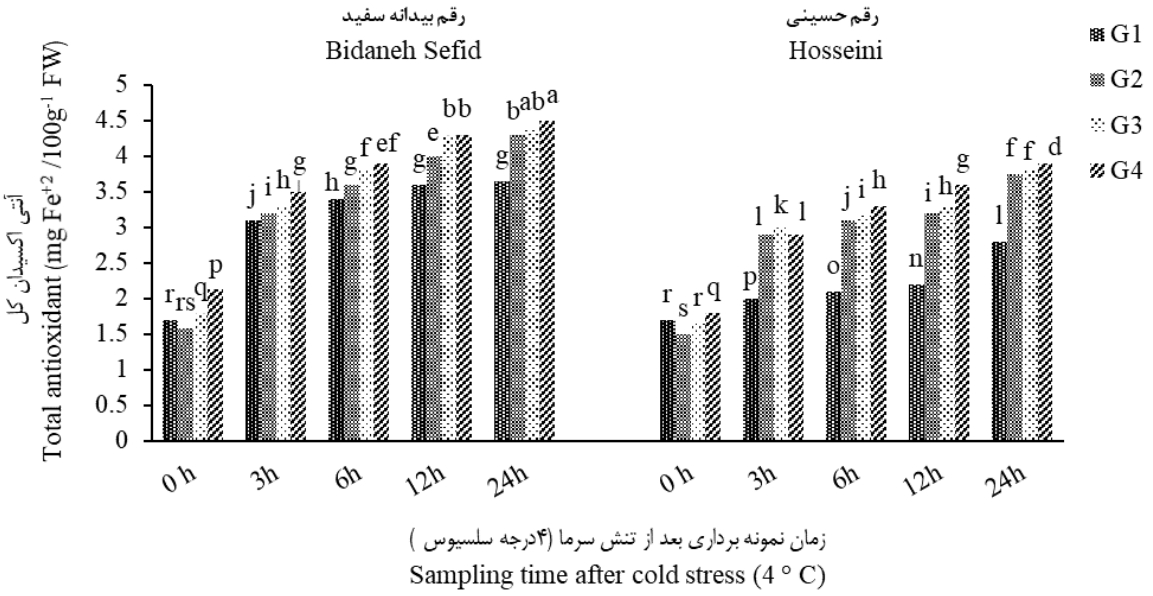

Fig. 3. Effects of gamma aminobutric acid treatment on antioxidant content of Bidaneh Sefid and Hosseini under during cold stress. G1: control, G2: 15 mM, G3: 30 mM, G4: 60 mM. The mean of each hour with the same letter was not statistically significant at the 1% level of Duncan's multiple range test.

شکل۳- اثرهای تیمار گاماآمینوبوتیریک اسید بر میزان آنتی‌اکسیدانی انگور بیدانه سفید و حسینی زیر تنش سرما. G1: شاهد، G2: ۱۵میلی‌مولار، G3: ۳۰ میلی‌مولار، G4: ۶۰ میلی‌مولار. میانگین‌های دارای حرف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.

محتوای پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء

بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده از تجزیه واریانس، برهمکنش محلول‌پاشی سطوح مختلف گاماآمینوبوتیریک اسید، رقم و زمان نمونه‌برداری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد و مقایسه میانگین تیمارها نشان داد تیمار ۶۰ میلی‌مولار گاماآمینوبوتیریک اسید توانست اثرهای منفی سرما بر افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید را در رقم بیدانه سفید نسبت به رقم حسینی کاهش دهد (شکل۴). از مهمترین آثار و آسیب‌های تنش‌های سرمایی، بروز عمل پراکسیداسیون در چربی‌های غشایی، تنش اکسایشی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن است. لیپیدها در واکنش به تنش‌ها به عنوان واسطه‌گرهای پیام‌دهی عمل نموده و نقش مهمی در روند کاهشی اثرهای مخرب تنش ایفا می‌کنند. نقش فیزیولوژیکی گاماآمینو بوتیریک اسید در تحمل به تنش سرما با تنظیم

اسمزی، پایداری غشاء و حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن مرتبط است (۲۶). گاماآمینوبوتریک اسید می‌تواند با حفظ ثبات غشاء از پراکسیداسیون لیپید غشاء ممانعت کرده و میزان صدمه‌ها و خسارت‌های وارد به دیواره یاخته‌ای گیاه را کاهش دهد. این سازوکار با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه صورت می‌پذیرد (۷).

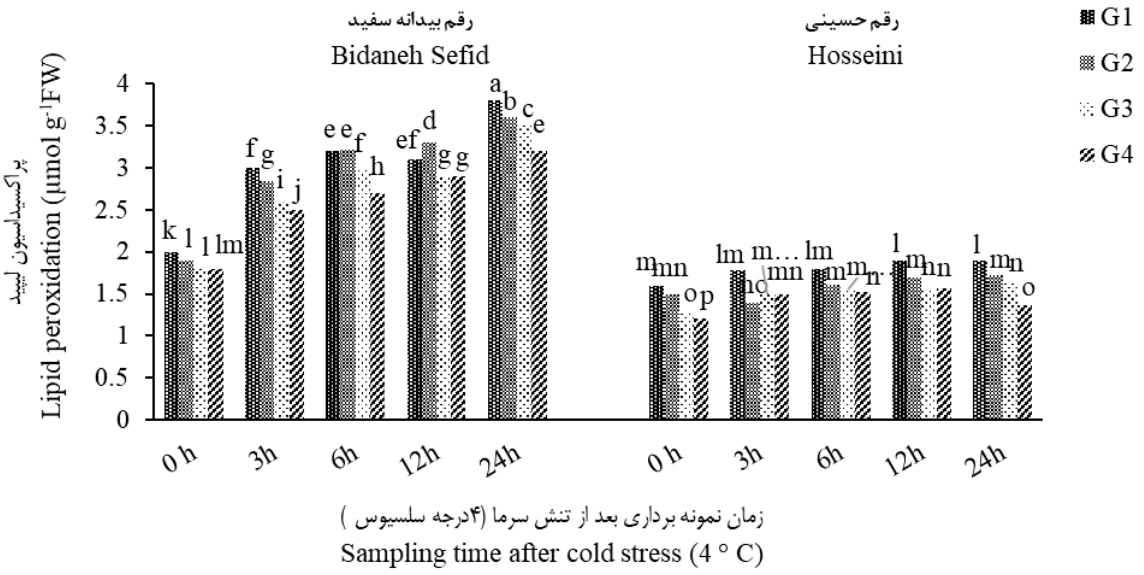

Fig. 4. Effects of gamma-aminobutric acid treatment on lipid peroxidation of Bidaneh Sefid and hosseini under during cold stress. G1: control, G2: 15 mM, G3: 30 mM, G4: 60 mM. The mean of each hour containing the same letter was not statistically significant at the 1% level of Duncan's multiple range test.

شکل۴- اثرهای تیمار گاماآمینوبوتیریک اسید بر میزان پراکسیداسیون لیپید غشاء انگور بیدانه سفید و حسینی زیر تنش سرما. G1: شاهد، G2: ۱۵میلی‌مولار، G3: ۳۰ میلی‌مولار، G4: ۶۰ میلی‌مولار. میانگین‌های دارای حرف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.

محتوای پرولین

براساس نتیجه‌های به‌دست آمده از تجزیه واریانس مشخص شد برهمکنش محلول‌پاشی سطوح مختلف گاماآمینوبوتیریک اسید، رقم و زمان نمونه‌برداری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار گردید و نتیجه‌های مقایسه میانگین نشان داد تیمار۶۰ میلی‌مولار گاماآمینوبوتیریک اسید طی ۲۴ ساعت سطح پرولین را در رقم بیدانه سفید نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۵). افزایش سطح پرولین ارتباط تنگاتنگی با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارد. پرولین در واقع یک اسمولیت سازگار بوده و به‌عنوان محافظ در برابر آنزیم‌ها و مهار رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند. انباشت پرولین در گیاهان زیر تنش به خصوص در پاسخ به تنش دمای پایین، می‌تواند موجب افزایش تحمل گیاه در برابر صدمه‌های ناشی از تنش شود (۳۷). افزایش میزان پرولین در اثر کاربرد گاماآمینوبوتریک اسید در شرایط تنش شوری (۳۲) و تنش سرما (۱۵) مشاهده شده است. بنابراین، افزایش پرولین زیر تنش سرما در اثر تیمار گاماآمینو بوتیریک اسید نشان دهنده مؤثر بودن این ترکیب در ترغیب تحمل به تنش سرمایی در این گیاه می‌باشد.

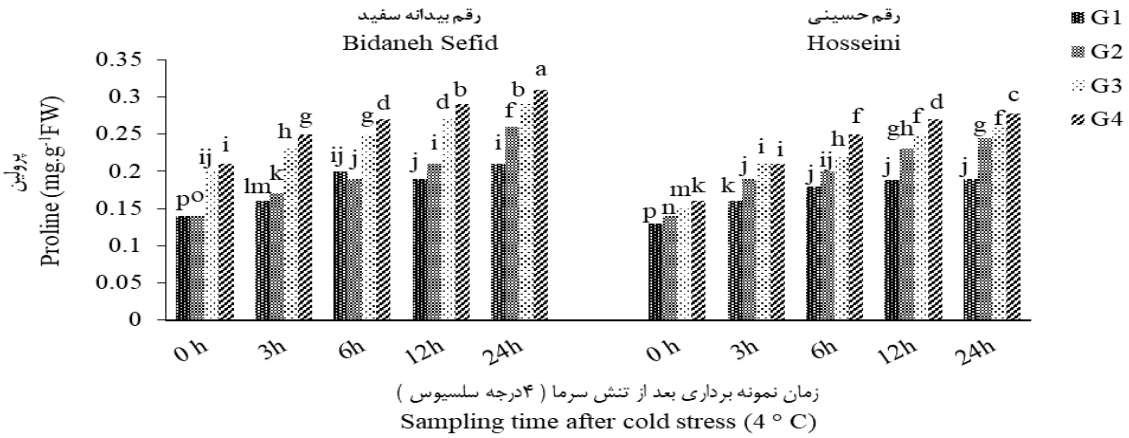

Fig. 5. Effects of gamma aminobutric acid treatment on proline content of Bidaneh Sefid and Hosseini under during cold stress. G1: control, G2: 15 mM, G3: 30 mM, G4: 60 mM. The mean of each hour with the same letter was not statistically significant at the 1% level of Duncan's multiple range test.

شکل۵- اثرهای تیمار گاماآمینوبوتیریک اسید بر میزان پرولین انگور بیدانه سفید و حسینی زیر تنش سرما. G1: شاهد، G2: ۱۵میلی‌مولار، G3: ۳۰ میلی‌مولار، G4: ۶۰ میلی‌مولار. میانگین‌های دارای حرف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.

فعالیت آنزیم کاتالاز

براساس نتیجه‌های به‌دست آمده از تجزیه واریانس اثرمحلول‌پاشی سطوح مختلف گاماآمینوبوتیریک اسید بر این شاخص در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد و نتیجه مقایسه میانگین به‌دست آمده نشان داد کاربرد گاماآمینوبوتیریک اسید در غلظت ۶۰ میلی‌مولار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش در رقم بیدانه سفید نسبت به رقم حسینی افزایش داده است (شکل ۶). طی تنش سرما آنزیم‌های دفاعی و بعد از تنش سرما ذخیره پروتئین گیاه افزایش می‌یابد. در واقع فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی همچون کاتالاز برای دوری گیاهان از صدمه‌های گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد (۱۲). گاماآمینو بوتریک اسید می‌تواند زیر تنش‌ها، سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را بالا ببرد. همچنین فعال‌سازی سیستم دفاعی ضد اکسایشی جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش آسیب اکسایشی از مزایای گاماآمینوبوتریک اسید زیر تنش سرمایی می‌باشد.

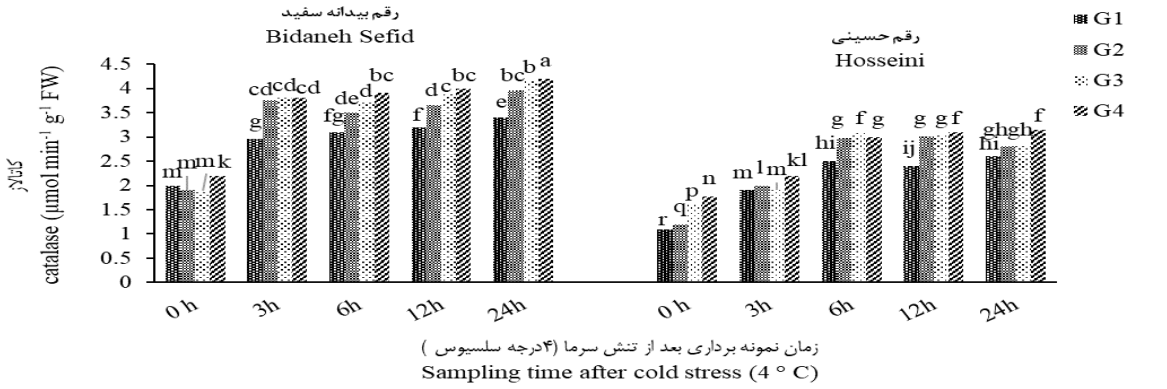

Fig. 6. Effects of gamma aminobutric acid treatment on the activity of Catalase enzyme in Bidaneh Sefid and Hosseini under during cold stress. G1: control, G2: 15 mM, G3: 30 mM, G4: 60 mM. Mean hours of the same letter were not statistically significant at the 1% level of Duncan's multiple range test.

شکل۶- اثرهای تیمار گاماآمینوبوتیریک اسید بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز انگور بیدانه سفید و حسینی زیر تنش سرما. G1: شاهد، G2: ۱۵میلی‌مولار، G3: ۳۰ میلی‌مولار، G4: ۶۰ میلی‌مولار. میانگین‌های دارای حرف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

براساس نتیجه‌های به‌دست آمده از تجزیه واریانس برهمکنش محلول‌پاشی سطوح مختلف گاماآمینوبوتریک اسید، رقم و زمان نمونه‌برداری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار گردید و نتیجه‌های به‌دست آمده نشان داد بیشترین فعالیت آنزیمی مربوط به تیمار ۶۰ میلی‌مولار گاماآمینوبوتیریک اسید نسبت به شاهد در رقم بیدانه سفید در زمان ۲۴ ساعت می‌باشد و رقم حسینی نسبت به رقم بیدانه سفید کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بود (شکل۷). گایاکول پراکسیداز تعداد زیادی از ترکیباهای آلی مانند فنول‌ها، آمین‌های معطر و هیدروکینون‌ها را اکسید می‌کند، اما معمول‌ترین پیش‌ماده مورد استفاده این آنزیم گوئیکول است. این پروتئین دارای آهن، ایندول استیک اسید را تجزیه می‌کند، در ساخت لیگنین نقش دارد و در مقابله با تنش‌های محیطی به‌عنوان مصرف کننده پراکسید هیدروژن عمل می‌کند. این آنزیم در سیتوپلاسم و آپوپلاست یافت می‌شود. فعالیت این آنزیم به گونه گیاه و شرایط تنش بستگی دارد. زیر تنش سرما فعالیت آنزیم‌های دفاعی دخیل در تنش اکسایشی افزایش می‌یابد. از این رو، می‌توان چنین نتیجه گرفت زمانی‌که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد بیان ژن‌های دخیل در ساخت آنزیم‌های دفاعی افزایش می‌یابد. گاماآمینوبوتیریک اسید می‌تواند زیر تنش‌ها ارتباط بین ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد و به این ترتیب تحمل را در گیاهان بالا ببرد (۲۳).

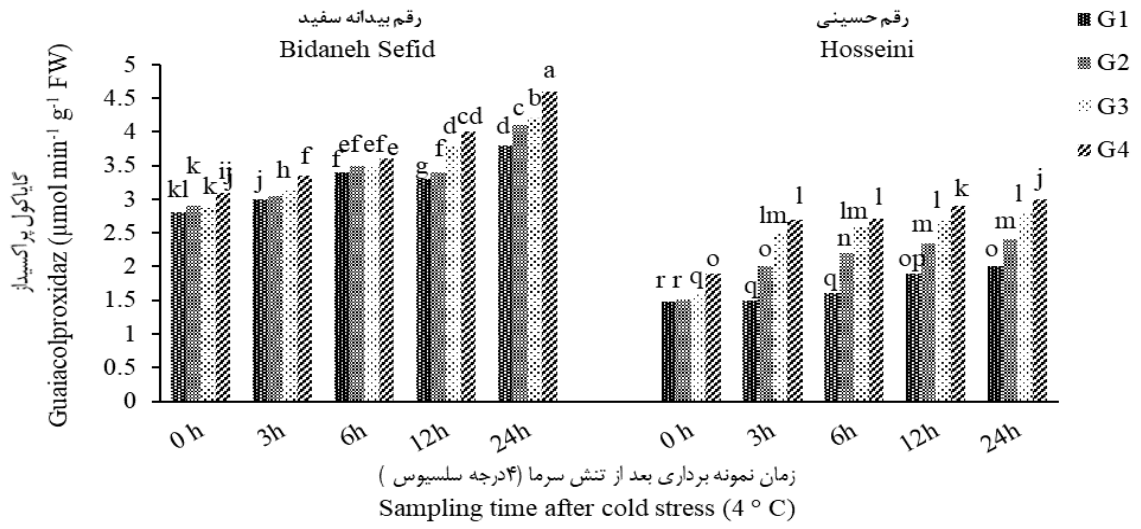

Fig. 7. Effects of gamma aminobutric acid treatment on the activity of guaiacol peroxidase enzyme in Bidaneh Sefid and Hosseini under during cold stress. G1: control, G2: 15 mM, G3: 30 mM, G4: 60 mM. Mean hours of the same letter were not statistically significant at the 1% level of Duncan's multiple range test.

شکل۷- اثرهای تیمار گاماآمینوبوتیریک اسید بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز انگور بیدانه سفید و حسینی زیر تنش سرما. G1: شاهد، G2: ۱۵میلی‌مولار، G3: ۳۰ میلی‌مولار، G4: ۶۰ میلی‌مولار. میانگین‌های دارای حرف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

براساس نتیجه‌های به‌دست آمده از تجزیه واریانس برهمکنش محلول‌پاشی سطوح مختلف گاماآمینوبوتیریک اسید، رقم و زمان نمونه‌برداری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار گردید و نتیجه‌های به‌دست آمده نشان داد بیشترین فعالیت آنزیمی مربوط به تیمار ۶۰ میلی‌مولار گاماآمینوبوتیریک اسید نسبت به شاهد در رقم بیدانه سفید در زمان ۲۴ ساعت می‌باشد. هرچند سایر غلظت‌ها نیز تفاوت اندکی با هم داشتند، اما تفاوت آنها با شاهد معنی‌داری نبود (شکل۸). تنش سرما، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد را به همراه دارد و گیاهان برای مهار این رادیکال‌ها در یاخته‌های خود سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی را اعمال می‌کنند. گاماآمینوبوتیریک اسید دارای پتانسیل تحمل به سرمازدگی در میوه‌های حساس به سرما است. فعال‌سازی سیستم دفاعی ضداکسایشی گاماآمینو بوتیریک اسید جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش آسیب اکسایشی زیر تنش سرمایی به اثبات

رسیده است (۳). پژوهشگران بیان داشتند که کاربرد گاماآمینوبوتیریک اسید زیر تنش شوری در توت‌فرنگی فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش می‌دهد. نتیجه‌های حاصل از پژوهش ما با نتیجه‌های پیشین همخوانی دارد (۷).

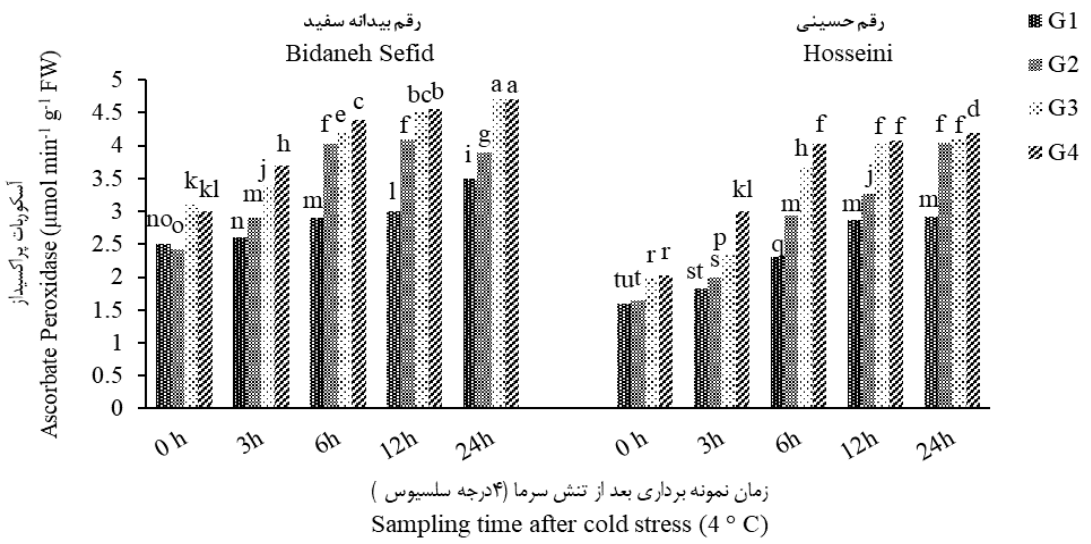

Fig. 8. The effects of gamma aminobutric acid treatment on the activity of ascorbate peroxidase enzyme in Bidaneh Sefid and Hosseini under during cold stress**.** G1: control, G2: 15 mM, G3: 30 mM, G4: 60 mM. The mean of each hour with the same letter was not statistically significant at the 1% level of Duncan's multiple range test.

شکل ۸- اثرهای تیمار گاماآمینوبوتیریک اسید بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز انگور بیدانه سفید و حسینی زیر تنش سرما. G1: شاهد، G2: ۱۵میلی‌مولار، G3: ۳۰ میلی‌مولار، G4: ۶۰ میلی‌مولار. میانگین‌های دارای حرف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.

نتیجه گیری

تنش‌سرما در کوتاه‌ترین زمان خسارت‌های بسیاری بر تاکستان‌های انگور تحمیل می‌کند. استفاده از برخی ترکیب‌های شیمیایی سازگار همچون گاما آمینوبوتیریک اسید می‌تواند میزان تحمل گیاه را در دوره تنش سرما افزایش دهد و با بالابردن تحمل در ارقام مختلف انگور، سبب افزایش راندمان تولید و کیفیت محصول و نیز افزایش عمر مفید تاک‌های انگور گردد. براساس یافته‌های این پژوهش می‌توان گفت تیمار۶۰ میلی‌مولار گاما آمینوبوتیریک اسید روی رقم بیدانه سفید، باعث تولید آنزیم پاداکسایشی بیشتر، انباشت پرولین و ساخت ترکیب‌های پلی‌فنولی در شرایط تنش گردیده و میزان فعالیت رادیکال‌های آزاد را در رقم بیدانه سفید نسبت به رقم حسینی کاهش داده است.

منابع

References

1. Benzie, I.F.F and J.J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘antioxidant power’: The FRAP assay. Anal. Bioch. 239: 70-76.
2. Bertamini, M., K. Muthuchelian, M. Rubinigg, R. Zorer and N. Nedunchezhian. 2005. Photoinhibition of photosynthesis in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling). Effect of chilling nights. Photosynthetica.,43: 551-557.
3. Deewatthanawong, R., P. Rowell and C. Watkins. 2010. γ-Aminobutyric acid (GABA) metabolism in CO_2 treated tomatoes. Post Biol.Technol. 57: 97-105.
4. Dhindsa, R.S., P. Dhindsa and A.T. Thorpe. 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. Exp. Bot. 32: 93-101.
5. FAO. 2018. FAOSTAT- Agricultural Data. http://faostat.fao.org/.

6. Fernandez, O., L. Vandesteene, R. Feil, F. Baillieul and J.E. Lunn. 2012. Trehalose metabolism is activated upon chilling in grapevine and might participate in *Burkholderia phytofirmans* induced chilling tolerance. Planta, 16: 11-4.
7. Ghobadipour, Z., T., Javadi And N. Ghaderi. (2015) The effect of osmotic stress and external application of gamma aminobutyric acid on morphological and physiological characteristics of strawberry cultivar Queen Eliza. Master Thesis. University of Kurdistan .124 Pp. (in persian)
8. Habibi, F., A. Ramezanian, M. Rahemi, S. Eshghi, F. Guillen, M. Serrano and D. Valero. 2019. Postharvest treatments with γ-aminobutyric acid, methyl jasmonate or methyl salicylate enhance chilling tolerance of blood orange fruit at prolonged cold storage. Sci. Food. Agr. 21: 46-59.
9. Heath, R.L and L. Packer. 1985. Photo peroxidation in isolated chloroplast, I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archi. Biochem. Biophys. 125: 189-198.
10. Honty, K., E. Sardi, E. Stefanovits-Banyai and M. Toth. 2008. Frost induced changes in enzyme activities and carbohydrate content in spurs of some pear cultivars during the dormancy. Intern. Hort. Sci. 14: 41-44.
11. Irigoyen, J.J., D.W. Emerich and M. Sanchez-Diaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Plant Physiol. 84:55- 60.
12. Jin, C., K.Q. Li, X.Y. Xu, H.P. Zhang, H.X. Chen, Y.H. Chen, J. Hao, Y. Wang, X.S. Huang and S.L. Zhang. 2017. A novel NAC transcription factor, PbeNAC1, of Pyrus betulifolia confers cold and drought tolerance via interacting with PbeDREBs and activating the expression of stress-responsive genes. Front Plant Sci. 8: 1049-1063.
13. Kang, H. and M. Saltveit. 2001. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicals. Physiol. Plant. 113: 548-556.
14.Karimi Alavijeh, M., A. Ebadi, A. Mousavi, A.R. Salami. 2015. Investigation of changes in catalase, peroxidase and protein nucleosides in response to cold stress in some grape cultivars. J. Hort. Sci. (Agricultural Sciences and Industries), 103-110: (1) 29. (In Persian)
15. Kaur, G., S. Kumar, P. Thakur, J.A. Malik and K. Bhandhari. 2011. Involvement of proline in response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to chilling stress at reproductive stage. Sci Hort. 128: 174-181.
16. Li, W., J. Liu, U. Ashraf, G. Li, Y. Li, W. Lu, L. Gao, F. Han and J. Hu. 2016. Exogenous γ aminobutyric Acid (GABA) application improved early growth, net photosynthesis, and associated physio biochemical events in maize. Front. Plant Sci. 7:106-115.
17. Mahmud, J.A., M. Hasanuzzaman, K. Nahar, A. Rahman, M.S. Hossain and M. Fujita. 2017. γ-aminobutyric acid (GABA) confers chromium stress tolerance in Brassica juncea L. by modulating the antioxidant defense and glyoxalase Preprints. Ecotoxicol. 26(5): 675-690.
18. Malekzadeh, P., F. Khosravi-Nejad, A.A. Hatamnia and R.S. Mehr. 2017. Impact of postharvest exogenous γ-aminobutyric acid treatment on cucumber fruit in response to chilling tolerance. Physiol. Mol. Biol. Plants. 7: 1-10.
19. Nakano, Y and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate- specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant.Cell Physiol. 22: 867-880.
20.Nejatiyan, M.A. 2013. Comparison of cold tolerance in some grape cultivars of Iran and Europe. J. Prod. Proc. Crop Hort. Prod. 157-170: (7) 3. (In Persian)
21. Paquin, R and P. Lechasseur. 1979. Observations ssue une methode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. Can. J. Bot. 57: 1851-1854.
22. Pereira, A. 2016. Plant abiotic stress challenges from the changing environment. Fron. Plant Sci. 7: 11-23.
23. Ramalho, J.C., A.P. Rodrigues, F.C. Lidon, L.M. Marques, A.E. Leitao, A.S. Fortunato, I.P. Pais, M.J. Silva, P. ScottiCampos, A. Lopes, F.H. Reboredo and A.I. Ribeiro-Barros. 2018. Stress cross-response of the antioxidative system promoted by superimposed drought and cold conditions in Coffea spp. PLOS One. 24: 66-73.
24. Sabir, A., E. Kafkas and S. Tangolar. 2010. Distribution of major sugars, acids and total phenols in juice of five grapevine (*Vitis* spp.) cultivars at different stages of berry development. Spanish Agri. Res. 8(2): 425-433.
25. Sharma, A., B. Shahzad, A. Rehman, R. Bhardwaj, M. Landi and B. Zheng. 2019. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. Molecules, 24(13): 24-52.
26. Shelp, B.J., G.G. Bozzo, C.P. Trobacher, A. Zarei, K.L. Deyman and C.J. Brikis. 2012. Hypothesis/review: Contribution of putrescine to 4-aminobutyrate (GABA) production in response to abiotic stress. Plant Sci. 193: 130-135.
27. Slinkard, K and V.L. Singleton. 1977. Total phenol analysis Automatin and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28: 49-55.
28. Taji, T., C. Oshumi, S. Iuchi, M. Seki, M. Kasuga, Y.K. Kobayashi, M. Shinozak and K. Shinozaki. 2002. Important roles of drought and cold inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in Arabidopsis thaliana. Planta, 29: 417-426.
29. Turhan, E and S. Ergin. 2012. Soluble sugars and sucrose-metabolizing enzymes related to cold acclimation of sweet cherry cultivars grafted on different rootstocks. Sci. World. 21: 277-285.

30. Upadhyaya, A., D. Sankhla, T.D. Davis, N. Sankhla and B.N. Smith. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Plant Physiol. 121: 453-461.
31. Veskoukis, A.S., A.M. Tsatsakis and D. Kouretas. 2012. Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration. Cell Stress and Chap. 17(1): 11-21.
32. Vijayakumari, K and J.T. Puthur. 2016. γ-Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in peper nigrum Linn. plants subjected to PEG-induced stress. Plant Growth Reg. 78(1): 57-67.
33. Wang, Y., Z. Luo, X. Huang, K. Yang, Sh. Gao and R. Du. 2014. Effect of exogenous γ-aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury andantioxidant capacity in banana peel. Hort. Sci. 168: 132-137.
34. Xiao, Z., S. Liao, S. Rogiers, V. Sadras and S. Tyerman. 2018. Effect of water stress and elevated temperature on hypoxia and cell death in the mesocarp of Shiraz berries. Aust. Grape Res. 20: 487-497.
35. Xu, W., D.T. Rosenow and H.T. Nguyen. 2008. Stay green trait in grain sorghum: relationship between visual rating and leaf chlorophyll concentration. Plant Breed. 119(4): 365-367.
36. Yang, A., S. Cao, Y. Cai and Y. Zheng. 2011. γ-Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defense response of peach fruit. Food Chem.129: 1619-1622.
37. Zahedipour, P., M. Asghari, B. Abdollahi, M. Alizadeh and Y.R. Danesh. 2019. A comparative study on quality attributes and physiological responses of organic and conventionally grown table grapes during cold storage. Hort. Sci. 247: 86-95.

Research article

Effects of Gamma Aminobutyric Acid (GABA) Foliar Application on Biochemical and Physiological Properties of Grapevine under Cold Stress

B. Ghorbani , H. Hassanpour* and M. Jafari[1]

Cold stress is one of the most important causes of reduced crop production and result in a lot of damages every year. In order to investigate the effect of gamma aminobutyric acid (GABA) spray on physiological and biochemical traits and improvement of cold tolerance, a study was conducted on Bidaneh Sefid and Hosseini cultivars factorial in a completely randomized design at the Urmia University. In this experiment, GABA was sprayed at four concentrations (0, 15, 30 and 60 mM) during 10-15 leaf stage in two cultivars (Bidaneh Sefid and Hosseini). The treated seedlings were then placed in a growth chamber at 4 °C and sampling of young and fully developed leaves was performed at defined times (0, 3, 6, 12 and 24 hours) and biochemical parameters such as total phenol, total soluble carbohydrate, antioxidant capacity, lipid peroxidation, proline content and activity of enzymes such as catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase were investigated. The results showed that the most positive impact against deleterious effects of cold was observed in 60 mM GABA at 24 hours after cold treatment compared to other treatments in both cultivars. The results also showed that the highest total soluble carbohydrate, total phenol, and proline content and the lowest lipid peroxidation were observed at 12 and 24 hours after cold treatment in Hosseini cultivar. The use of this compound increases plant signaling and prevents severe damage by removing free radicals during stress.
Keywords: Antioxidant enzymes, Lipid peroxidation, Proline, Foliar spray.

1. Ph.D. Student,and Associate Professor of Horticultural Science and Associate Professor of Plant Production and Genetics, Faculty of Agricultre and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran, respectively.
* Corresponding author, Email: (Phhassanpour@[illegible]* h.hassanpour@urmia.ac.ir*).