Application of gamma aminobutyric acid treatment on frost damage and antioxidant properties of Cavendish banana (*Musa acuminata* cv. Cavendish) during cold storage

Zahra Pakish*, Somia Mohajerpour, Safoora Saadati

Introduction

Fresh fruits and vegetables are physiologically active and perishable after harvest. Continued metabolic processes such as transpiration or respiration may significantly affect their quality and thus shorten their useful life. Since keeping at low temperatures and without freezing for a long time effectively reduces the physiological activity of the products, it can be used as a strategy to maintain the quality of the products and increase their life after harvesting. Among the most economically important tropical fruits, ripe green bananas are very sensitive to cold and when stored below the threshold temperature, they show all the symptoms of frost damage. Although cold sensitivity in banana fruit depends on cultivar, stage of maturity and ripening status. Nowadays, increasing the life after harvesting of garden products by using natural and plant-compatible compounds has attracted a lot of attention. Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a four-carbon non-protein amino acid compound that is naturally found in plants, animals and bacteria. Abiotic stresses such as cold, heat, drought, ultraviolet rays and low oxygen can cause the accumulation of GABA in plants. Generally, the purpose of this research was to investigate the effect of gamma-aminobutyric acid treatment to improve freezing and antioxidant properties of Cavendish banana at 5 degrees Celsius for 24 days in 90% relative humidity.

Materials and methods

Cavendish banana fruits (*Musa acuminata* cv. Cavendish) at the time of commercial maturity (ripe green) were obtained from a banana garden in Kerman and immediately transferred to the horticultural science laboratory of Shahid Bahoner University, Kerman. Healthy and uniform fruits were selected in terms of size, shape, color, and degree of ripening, and after washing with water and drying them, frost tolerance, malondialdehyde, and antioxidants were measured for zero day. GABA (Sigma-Aldrich, USA) required after weighing was dissolved in water and prepared in two concentrations of 2.5 and 5 mM. The fruits were divided into three groups of 54 and each repetition included 18 fruits. The first and second groups were immersed in GABA solution of 2.5 mM and 5 mM for 5 minutes, respectively. The third group was immersed in distilled water for 5 minutes and was used as a control (Khaliq et al., 2023). Each treatment was repeated three times. Then, all the fruits were dried in the air for one hour and kept for 24 days at 5 degrees Celsius and relative humidity of 85-90%. Biochemical observations were measured on days 0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24 of storage.

Results and discussion

The results of this research showed that the frost damage gradually increased during the storage period and the control fruits showed significantly more frost damage symptoms than the fruits treated with GABA. GABA treatments of 2.5 and 5 mM at the end of the storage period reduced the amount of frost damage by 55.64 and 69.95%, respectively, compared to control fruits. As shown in Figure 1b, MDA content as an index of membrane lipid peroxidation in the control

and GABA-treated fruit showed an upward trend, which was associated with the destruction of banana fruit membrane under cold stress. Compared to control, banana fruits treated with GABA showed lower MDA accumulation during the entire storage period at 4 degrees Celsius. On the last day of storage, GABA treatment with a concentration of 2.5 mM and 5 mM reduced the amount of MDA in banana fruits by 30.99% and 59.80%, respectively, compared to the control. Post-harvest treatment with GABA reduced frostbite, ion leakage and MDA levels in banana fruits, thereby maintaining fruit quality during low temperature storage. GABA treatment increased the activity of catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) enzymes in banana fruit compared to the control under low temperature storage. The activity of antioxidant enzymes CAT, APX, POD and SOD increased significantly until the 20th day of storage at low temperature, especially in the 5 mM GABA treatment compared to the other two treatments, and then decreased slightly at the end of the storage period. An increase in the concentration of oxygen free radicals, including hydrogen peroxide, leads to an increase in catalase enzyme activity. Catalase enzyme is often present in the peroxisome and causes the decomposition of hydrogen peroxide into water and oxygen. The specific activity of catalase enzyme increased during cold storage, especially in GABA treatments, so it seems that this enzyme is an efficient scavenger for removing hydrogen peroxide and thus causes better protection of cells against peroxidation. In the ascorbate-glutathione cycle, the ascorbate peroxidase enzyme reduces the amount of hydrogen peroxide by using ascorbate as an electron donor. In the present study, the activity of ascorbate peroxidase enzyme in GABA treatment was significantly higher than the control, which indicates the importance of the role of ascorbate peroxidase in plant tissues against oxidative damage. Guaiacol peroxidase enzyme is another antioxidant enzyme that decomposes hydrogen peroxide into water and oxygen. Peroxidase enzyme plays a role in the oxidation of precursors of phenolic compounds, lignin production, and removal of free radicals. The activity of peroxidase enzyme had a similar trend in all three treatments, although its activity in GABA treatments was more than the control. Therefore, this enzyme effectively eliminated free radicals in banana fruits. In confirmation of these findings, it was reported in research that the activity of peroxidase enzyme increased in fir cuttings during the cold period. In research, post-harvest treatment of GABA with a concentration of 5 mM reduced frostbite and increased the activity of antioxidant enzymes such as CAT, APX, POD and SOD in peach fruits.

Conclusion

The results of this research showed that the post-harvest treatments used reduced the signs of frostbite and preserved the antioxidant properties of banana fruits. Among the treatments, 5 mM concentration of GABA was the most effective treatment in the storage period. Therefore, GABA treatment can be used as a practical solution to reduce frostbite and preserve the antioxidant properties of Cavendish bananas during long-term storage.

Keywords: antioxidant enzymes, GABA, malondialdehyde, ion leakage.

کاربرد تیمار گاما آمینو بوتیریک اسید بر آسیب سرمازدگی و خواص آنتی اکسیدانی موز رقم کاوندیش (*Musa acumin*ata cv. Cavendish) در طی انبارمانی سرد

زهرا پاک کیش*- سمیه مهاجرپور- صفورا سعادتی

*- zahrapakkish@uk.ac.ir

چکیده:

در این پژوهش تأثیر تیمار پس از برداشت گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) با غلظت های (صفر، ۲/۵ و ۵ میلی مولار) به صورت غوطه‌وری به مدت ۵ دقیقه بر سرمازدگی و خواص آنتی اکسیدانی میوه موز در طی نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه برداری هر ۴ روز یک بار در روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ انبارمانی انجام گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. صفات مختلفی از قبیل آسیب سرمازدگی، مالون دی آلدهید، آنزیم های آنتی اکسیدانت شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، ظرفیت مهار رادیکال‌های DPPH و میزان تجمع H_2O_2 مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان سرمازدگی در میوه های موز در پاسخ به تیمار ۵ میلی مولار گابا کمتر بود که با کاهش نشت یونی و تجمع مالون دی آلدهید همراه بود. میوه های شاهد بیشترین میزان نشت یونی و آسیب سرمازدگی را داشتند. میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و همچنین ظرفیت آنتی اکسیدانی در میوه های موز در طی دوره انبارمانی سرد تحت تأثیر تیمارهای گابا در مقایسه با شاهد افزایش یافت. میزان تجمع H_2O_2 که از مهمترین شاخص‌های تنش اکسیداتیو در سلول است، تحت انبارمانی در دمای پایین در تیمار شاهد بیش از تیمارهای گابا افزایش یافت. در تیمار ۵ میلی مولار گابا میزان H_2O_2 در طی دوره انبارمانی تقریباً ثابت ماند. به طور کلی، تیمار ۵ میلی مولار گابا موثرترین تیمار برای کاهش اثرات سرمازدگی و حفظ خواص آنتی اکسیدانی میوه های موز رقم کاوندیش در دوره انبارمانی طولانی مدت بود.

کلمات کلیدی: آنزیم های آنتی اکسیدان، گابا، مالون دی آلدهید، نشت یونی.

مقدمه:

موز (*Musa* spp.) گیاهان غول‌پیکر تک‌لپه‌ای چند ساله از خانواده Musaceae و راسته Zingiberales هستند. موز برای امنیت غذایی در بسیاری از کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری حیاتی است و محبوب ترین میوه در کشورهای صنعتی است (D'hont et al., 2012). این میوه بـه دلیـل داشتن مقادیر بالایی نشاسـته، شـکر، ویتـامین هـای A و C، پتاسـیم، سدیم و منیـزیم از ارزش تغذیـه ای بـالایی برخـوردار اسـت و منبـع مناسبی از انـرژی است (Fernandes et al., 2006). در ایران، موز به صورت گسترده در استان‌های سیستان و بلوچستان، هرمزگان، کرمان و برخی مناطق دیگر کشت می‌شود. ایران با سطح زیر کشت ۴۱۲۷ هکتار مقام ۶۶ و با میزان تولید ۱۳۲۲۷۷/۹ تن مقام ۵۸ تولید موز جهان را به خود اختصاص داده است (FAOSTAT, 2022).

میوه ها و سبزیجات تازه، پس از برداشت از نظر فیزیولوژیکی بسیار فعال و فاسد شدنی هستند. ادامه فرآیندهای متابولیکی مانند تعرق یا تنفس ممکن است به طور قابل توجهی بر کیفیت آنها تأثیر بگذارد و در نتیجه عمر مفید آنها را کوتاه کند. از آنجایی که نگهداری در دماهای پایین و بدون انجماد به مدت طولانی، به طور مؤثری فعالیت فیزیولوژیکی محصولات را کاهش می‌دهد، می‌تواند به عنوان یک راهکار به منظور حفظ کیفیت محصول و افزایش عمر پس از برداشت آنها مورد استفاده قرار گیرد (Billiard, 1997; Herppich & Zsom, 2021).

میوه ها و سبزیجات نیمه گرمسیری و یا گرمسیری به دماهای پایین (کمتر از ۱۰ درجه سلسیوس) بسیار حساس هستند و قرار گیری آنها در معرض چنین تنش سرمایی در حین انبارمانی، حمل و نقل و یا بازاررسانی، به آنها آسیب های جدی وارد می‌کند. گزارش‌ها میزان تلفات محصولات فاسد شدنی، مانند میوه ها و سبزیجات، به طور میانگین ۶/۴ درصد را در مقایسه با ۳/۸–۲/۷ درصد برای سایر محصولات نشان می دهد. همچنین میزان تلفات میوه ها و سبزیجات در مناطق با درآمد متوسط پایین، با میانگین ۱۰ تا ۱۵ درصد در مقایسه با ۴ تا ۷ درصد برای اروپا و آمریکای شمالی، است. اگرچه نقصان آمار و اطلاعات قابل توجهی باقی مانده است و مقایسه نتایج در بین کشورها یا حتی بین بخش های درون آنها همچنان چالش برانگیز است (Fabi et al., 2021).

در بین مهم‌ترین میوه‌های استوایی از نظر اقتصادی، موز سبز رسیده بسیار حساس به سرماست و هنگامی که زیر دمای آستانه (تقریباً ۱۳ درجه سلسیوس) نگهداری شوند، تمام علائم صدمه سرمازدگی (Chilling injury) را بروز می‌دهند (Zsom et al., 2018). اگرچه حساسیت به سرما در میوه موز به رقم، مرحله بلوغ و وضعیت رسیدگی (به عنوان مثال، تیمار شده با اتیلن یا خیر) بستگی دارد (Pongprasert et al., 2011; Wang et al., 2015). شرایط بهینه برای نگهداری و حمل و نقل موز سبز رسیده ۱۳ تا ۱۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰ تا ۹۵ درصد و ۱۵ تا ۲۰ درجه

سلسیوس برای رسیدن است (Elbagoury et al., 2021; Hardenburg et al., 1986). اگرچه نگهداری در دماهای پایین تر از حد آستانه باعث کاهش از دست دهی وزن میوه، تنفس و بیوسنتز اتیلن میوه می شود، اما CI را نیز القا می کند. علائم منحصر به فرد قابل مشاهده (تغییر رنگ سطح پوست و تغییر رنگ بافت زیر اپیدرمی) نشان می دهد که CI عمدتاً اما نه منحصراً یک عارضه پوستی است. در موارد شدید، پوست می‌تواند قهوه‌ای تیره یا سیاه شود و در این صورت، گوشت میوه قهوه‌ای و بد طعم می‌شود (Luyckx et al., 2016; Zhu et al., 2018). علائم CI به عوامل مختلفی مانند حساسیت یک گونه یا رقم خاص به دماهای پایین، شدت کاهش دما، مدت قرار گیری در معرض دماهای پایین، وضعیت فیزیولوژیکی و مرحله بلوغ محصول بستگی دارد. با این حال، علائم آسیب سرمازدگی معمولاً در خرده‌فروشی پس از رفع دمای پایین، به‌شدت قابل مشاهده است و بر کیفیت و بازارپسندی محصول تأثیر منفی می‌گذارد Aghdam (& Bodbodak, 2014; Murata, 1969). غشای سلولی اولین جایی است که تحت تأثیر عوامل نامساعد محیطی قرار می‌گیرد. در شرایط تنش سرما فعالیت بخش‌های ساختاری غشا مانند فعالیت آنزیم‌های چسبیده به غشا و آنزیم‌هایی که محل حضورشان در غشا است دچار اختلال می‌شوند (Wisniewski et al., 2003). یکی از مهم‌ترین آسیب‌ها در مواجهه با سرما، وقوع پراکسیداسیون در چربی‌های غشا است که طی آن رادیکال‌های هیدروکسیل باعث تغییر در سیالیت، انسجام و نفوذ پذیری غشا می‌شوند. مالون دی آلدئید یکی از محصولات سمی حاصل از تخریب غشاها است که به عنوان یک نشانگر زیستی حاصل از تخریب غشاها به طور وسیع برای بررسی مقاومت به سرما استفاده شده است (Saadati et al., 2019).

تحت شرایط تنش سرما، تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن اجتناب ناپذیر است (Suzuki & Mittler, 2006). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) برای سلول‌ها سمّی و مخرب است، زیرا باعث ایجاد صدمه به غشاهای سلولی، کلروپلاست، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود و متابولیسم عادی سلول را مختل می‌کند (Campos et al., 2003). گیاهان در هنگام مواجهه با سرما مجهز به سازوکارهایی برای از بین بردن ROS از قبیل آنزیم‌های آنتی اکسیدان (مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز)، هستند (Janeczko et al., 2009).

روش‌های مختلف پس از برداشت (تیمارهای شیمیایی، مدیریت زمان–دمای وابسته به محصول، تیمارهای دمایی کوتاه‌مدت مانند قرارگیری در معرض آب گرم، هوای گرم یا بخار گرم) برای کاهش علائم CI پیشنهاد شده است (Khademi et al., 2019; Promyou et al., 2008). امروزه افزایش عمر پس از برداشت محصولات باغی با استفاده

از ترکیب‌های طبیعی و سازگار با گیاه، توجه زیادی را به خود معطوف کرده است. گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) یک ترکیب آمینو اسیدی چهار کربنه غیر پروتئینی است که به طور طبیعی در گیاهان، جانوران و باکتری‌ها یافت می‌شود (Heli et al., 2022). گابا به عنوان یک نوع انتقال دهنده عصبی مهم در گیاهان و جانوران، در تنظیم انواع مسیرهای سیگنالینگ عصبی و عملکردهای فیزیولوژیکی شرکت می کند. در فعالیت های بیولوژیکی مختلف از جمله کاهش فشار خون، ضد درد، ضد اضطراب، کاهش اوره خون و بهبود فعالیت مغز نقش دارد و مشارکت در تنظیم فعالیت قلبی عروقی تایید شده است (Ma et al., 2015).

تنش‌های غیرزیستی مانند سرما، گرما، خشکی، پرتو فرابنفش و اکسیژن کم، می‌تواند باعث انباشت GABA در گیاهان شود (Deewatthanawong et al., 2010). گاما آمینو بوتیریک اسید در کاهش سرمازدگی پس از برداشت محصولات باغبانی نقش دارد و تیمار برون زاد آن موجب افزایش عمر انبارمانی میوه‌ها و سبزی‌ها و گل ها شده است. تیمار پس از برداشت GABA باعث کاهش سرمازدگی در میوه های هلو (Shang et al., 2011; Yang et al., 2011) و موز (Wang et al., 2014) گردید.

بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر تیمار گاما آمینو بوتیریک اسید به منظور بهبود سرمازدگی و ویژگی‌های آنتی اکسیدانی موز رقم کاوانديش در دمای ۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ روز در رطوبت نسبی ۹۰ درصد بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

میوه‌های موز رقم کاوندیش (*Musa acumin*ata cv. Cavendish) در زمان بلوغ تجاری (سبز رسیده) در فصل پاییز از یک باغ موز در کرمان تهیه و بلافاصله به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه شهید باهنر کرمان منتقل شد. میوه‌های سالم و یکنواخت از لحاظ اندازه، شکل، رنگ و درجه رسیدگی انتخاب شدند.

پیاده کردن طرح آزمایشی و معرفی تیمارها

گابا (سیگما–آلدریچ، آمریکا) مورد نیاز پس از توزین در آب حل شده و در دو غلظت ۲/۵ و ۵ میلی مولار تهیه شد. میوه ها به سه گروه ۵۴ تایی تقسیم شدند و هر تکرار شامل ۱۸ میوه بود. گروه اول و دوم به ترتیب در محلول گابا ۲/۵ میلی

مولار و ۵ میلی مولار به مدت ۵ دقیقه غوطه ور شدند. گروه سوم به مدت ۵ دقیقه در آب مقطر غوطه ور شد و به عنوان شاهد استفاده شد (Khaliq et al., 2023). هر تیمار سه بار تکرار شد. سپس تمام میوه‌ها به مدت یک ساعت در هوا خشک شدند و به مدت ۲۴ روز در دمای ۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰–۸۵ درصد نگهداری شدند. مشاهدات بیوشیمیایی در روز های ۰، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ نگهداری اندازه گیری شد.

صفات اندازه گیری شده

آسیب سرمازدگی

آ سیب سرمازدگی میوه ها در هر یک از زمان های نمونه برداری مورد برر سی قرار گرفت. میوه‌های دارای لکه‌های پوستی و اختلال‌های ظاهری ناشی از سرمازدگی شمارش شدند. نمره آسیب سرمازدگی به صورت صفر (بدون صدمه)، ۱ (ملایم با تعداد لکه‌های پوستی کم)، ۲ (متوسط) و ۳ (شدید) گروه بندی شد. اندازه گیری آسیب سرمازدگی از تقسیم مجموع کل میوه هایی که آسیب سرمازدگی ظاهری نشان داده اند (لکه پوستی) بر کل میوه در هر تیمار به دست آمد و میزان آسیب سرمازدگی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{آسیب سرمازدگی} = \frac{\sum (\text{تعداد میوه ها در هر گروه} \times \text{نمره سرمازدگی گروه})}{\text{کل میوه های بررسی شده}}$$

مالون دی آلدهید

ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه با ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج تری کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد هموژنه شده و به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی به دست آمده با ۴ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد حاوی TCA ۲۰ درصد مخلوط و در حمام آب جوش (۹۵ درجه سلسیوس) به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس نمونه‌ها سریعاً سرد و مجدداً به مدت ده دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. برای حذف اثر ترکیبات مزاحم، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر ($A_{۶۰۰}$) قرائت شده و از مقدار جذب آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر ($A_{۵۳۲}$) کم شد (Buege, 1978).

استخراج عصاره های آنزیمی

برای اندازه گیری فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی اکسیدان، ابتدا ۰/۵ گرم بافت میوه توزین و سپس با یک میلی‌لیتر بافر استخراج به طور کامل همگن شد. بافر استخراج شامل یک میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار با pH ۷/۸ حاوی ۲ میلی مولار اتیل دی آمین تترا استیک اسید، ۴ درصد تریتون، ۵۰ میلی‌مولار تریس و ۲ میلی مولار دی تیوتریتول (در آب دیونیزه استریل) بود. عصاره حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف واقع در بالای عصاره برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پروتئین‌های محلول به‌کار گرفته شد.

فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز

برای این منظور ۳ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار، با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیم مخلوط شد. با ردیابی اسپکتروفتومتری تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر، فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد (Aebi, 1983).

فعالیت ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز

برای شروع واکنش، ۳ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷)، پراکسید هیدروژن ۰/۵ میلی‌مولار، آسکوربات ۵ میلی‌مولار با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیم مخلوط شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز با استفاده از اسپکتروفتومتر و با اندازه‌گیری کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد (Nakano & Asada, 1980).

فعالیت ویژه آنزیم پرکسیداز

به این منظور به ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم حاوی ۴/۵ میکرولیتر هیدروژن پراکسید، ۳/۳۵ میکرولیتر گایاکول و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه و در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت دو دقیقه قرائت شد (Maehly & Chance, 1954).

نسخه پیش انتشار

فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

برای تهیه ترکیب واکنش، ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات عمومی، ۳۳ میکرولیتر نیتروبلوتترازولیوم، ۳۳ میکرولیتر ریبوفلاوین و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی داخل لوله آزمایش استریل ریخته و بلافاصله به مدت ۱۵ دقیقه زیر نور لامپ فلورسانس ۱۵ وات قرار داده شد. جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم، مخلوط حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر طیف سنجی شد (Sairam & Saxena, 2000).

پروتئین‌های محلول

بدین منظور غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ گرم در لیتر سرم آلبومین گاوی (BSA) در آب مقطر تهیه شد و منحنی استاندارد آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر رسم شد. میزان پروتئین‌های محلول پس از قرائت میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر و مقایسه با منحنی استاندارد برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر تعیین شد (Bradford, 1976).

ظرفیت آنتی اکسیدانی

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش درصد مهار رادیکال‌های DPPH (۲، ۲- دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازید) استفاده شد (Sanna et al., 2012). ابتدا به منظور تهیه عصاره گیاهی ۰/۵ گرم از بافت میوه با ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ ٪ ترکیب و روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه برای مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار داده شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره رویی با ۵ میلی‌لیتر از محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار (۴ میلی‌گرم پودر DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ٪ ۸۰) مخلوط شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه جذب نمونه گیاهی و شاهد (۵ میلی‌لیتر DPPH + ۰/۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪) در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

پراکسید هیدروژن

نسخه پیش انتشار

میزان پراکسید هیدروژن بر اساس واکنش H_2O_2 با یدید پتاسیم (KI) تعیین گردید. در این روش، ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه در ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد در حمام آب یخ ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی مولار و اسیدیته ۷/۵ و ۱ میلی لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت. جذب نمونه ها نیز در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه گیری شد .(Alexieva et al., 2001)

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. آنالیز آماری با نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد

نتایج و بحث

آسیب سرمازدگی

نتایج این پژوهش نشان داد آسیب سرمازدگی در طی دوره انبارمانی به تدریج افزایش یافت و میوه های شاهد به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) نشانه‌های سرمازدگی بیشتری نسبت به میوه‌های تیمار شده با گابا نشان دادند (شکل ۱ الف). تیمارهای گابا ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار در انتهای دوره انبارمانی (روز بیست و چهارم)، به ترتیب میزان آسیب سرمازدگی را ۵۵/۶۴ و ۶۹/۹۵ درصد نسبت به میوه‌های شاهد کاهش دادند. بنابراین علائم آسیب سرما به وضوح در میوه‌های موز تیمار شده با گابا مهار شد. پژوهش‌های مشابهی در سایر میوه های تیمار شده با گابا مانند هلو (Shang et al., 2011)، موز (Ngaffo Mekontso et al., 2021; Wang et al., 2014; Zhou et al., 2022) و خیار (Malekzadeh et al., 2017) مشاهده شده است.

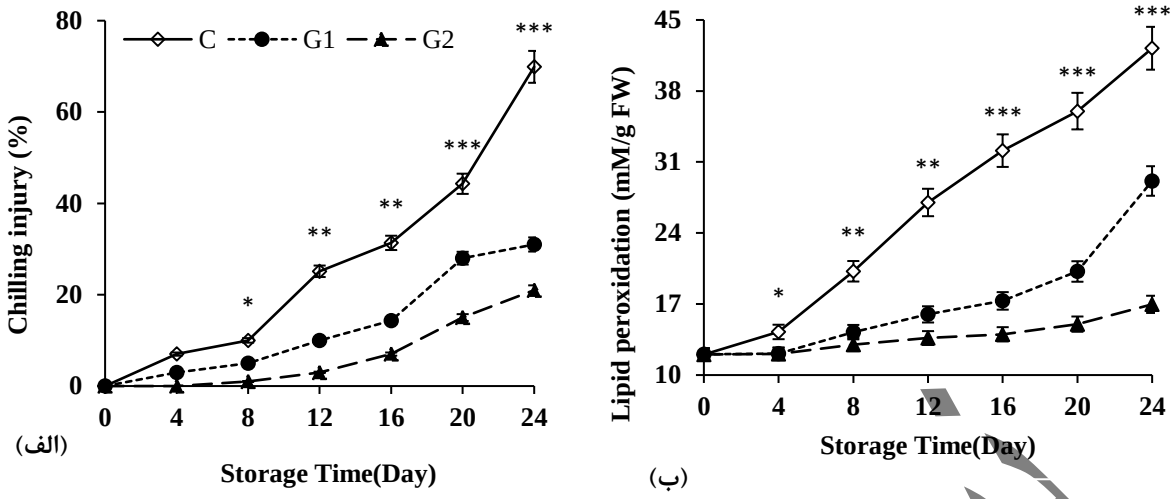
غشای سلولی اولین خط دفاعی برای محافظت از سلول در هنگام تنش است. رخداد اولیه ای که در طی تنش سرمایی رخ می دهد، تخریب غشای پلاسمایی است (Mditshwa et al., 2023). هنگامی که گیاهان حساس به سرما تحت تنش دمای پایین قرار می گیرند، غشای سلولی از یک ساختار انعطاف پذیر به یک ساختار سفت تغییر می کند و این می‌تواند باعث ایجاد ترک و نشت آب، یون ها و متابولیت ها شود (Wolfe, 1978). تحت تنش سرما، تغییرات در ساختار

غشای سلولی بر سیالیت و عملکرد غشا تأثیر می گذارد (Liang et al., 2020). نشت الکترولیت به عنوان پارامتری برای ارزیابی پایداری و نفوذپذیری غشای سلولی استفاده می شود. تخریب ساختار غشای سلولی با تغییر نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع/اشباع و افزایش سطح نشت الکترولیت اتفاق می افتد (Marangoni et al., 1996). نقش گابا در حفظ یکپارچگی و سیالیت غشای سلولی به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. به عنوان مثال، تیمارهای گابا با محافظت از ساختار غشای سلولی، تحمل سرما را در میوه‌های پرتقال خونی و گلابی بهبود بخشید (Li et al., 2019; Habibi et al., 2019). تیمار گابا ممکن است نشت الکترولیت را مهار کند و متعاقباً یکپارچگی غشای سلولی را در میوه موز تیمار شده حفظ کند.

مالون دی آلدهید

همانطور که در شکل ۱ ب نشان داده شده است، محتوای MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در میوه شاهد و تیمار شده با گابا روند صعودی را نشان دادند که با از بین رفتن غشای میوه موز تحت تنش سرما همراه بود. میوه‌های موز تیمار شده با گابا در مقایسه با شاهد، تجمع MDA کمتری را در کل مدت نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس نشان دادند. در روز آخر انبارمانی (روز بیست و چهارم) تیمار گابا با غلظت ۲/۵ میلی مولار و ۵ میلی مولار به ترتیب ٪۳۰/۹۹ و ٪ ۵۹/۸۰ مقدار MDA را در میوه های موز نسبت به شاهد کاهش داد.

مالون دی آلدهید محصول جانبی پراکسیداسیون لیپیدی و نشانگر آسیب اکسیداتیو سلولی است. پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی یکی از علائم اولیه بیوشیمیایی آسیب سرمازدگی است و افزایش تولید MDA نشانه آسیب غشای سلولی است (Ramos-Ruiz et al., 2019). تخریب لیپیدها و پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع از دلایل اصلی تجزیه غشا هستند. پژوهش‌های پیشین نشان داده است که افزایش تجمع MDA و نشت یون همبستگی نزدیکی با تنش سرما در گیاهان دارد (Ding et al., 2007). افزایش نشت یون و MDA در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجاتی که از آسیب ناشی از سرما رنج می‌برند مشاهده شده است (Valenzuela et al., 2017). در این پژوهش نیز تیمار پس از برداشت گابا باعث کاهش سرمازدگی، نشت یونی و میزان مالون دی آلدهید در میوه‌های موز شد و از این طریق موجب حفظ کیفیت میوه در طی دوره انبارمانی در دمای پایین شد.

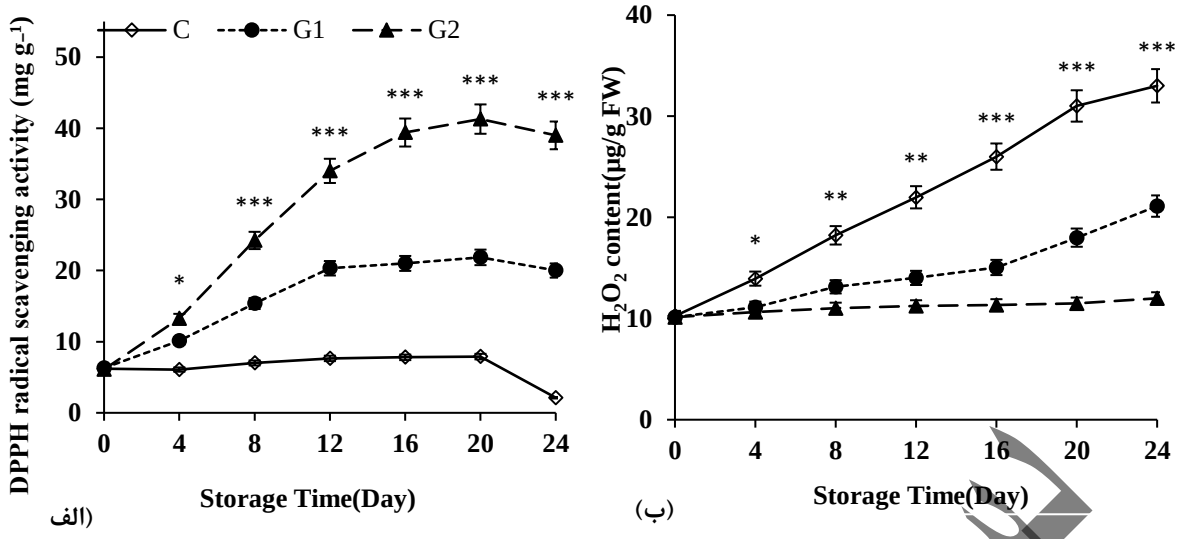


شکل ۱. اثر تیمار گابا (G_1 =۲/۵ mM و G_2 =۵ mM) روی آسیب سرمازدگی (الف) و مالون دی آلدهید (ب) میوه‌های موز طی انبارمانی در دمای ۵ درجه سلسیوس. ستاره ها تفاوت معنی داری را بین تیمارهای گابا با شاهد نشان می دهند (* $p<۰/۰۵$، ** $p<۰/۰۱$، *** $p<۰/۰۰۱$).

ظرفیت آنتی اکسیدانی

میوه‌های موز تیمار شده با گابا و شاهد با زمان نگهداری افزایش در ظرفیت آنتی اکسیدانی نشان دادند. در مقایسه با گروه شاهد، میوه تیمار شده با گابا ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری را در کل انبار حفظ کرد. در روز آخر انبارمانی کاهش در ظرفیت آنتی اکسیدانی تمام تیمارها مشاهده شد، اگرچه این کاهش در تیمار شاهد شدیدتر بود (شکل ۲ الف). انواع مختلفی از ترکیبات آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی وجود دارد که می توانند به ظرفیت کل آنتی اکسیدانی کمک کنند. با این حال، مشخص نیست که کدام ترکیبات عمدتاً مسئول افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی هستند. در پژوهشی گزارش داده شد که میوه‌های موز تیمار شده با گابا تجمع ترکیبات فنولی بالاتری را نشان دادند که ناشی از فعالیت آنزیم پلی فنل آمونیالیاز بالاتر است که باعث افزایش ظرفیت DPPH می‌شود که نه تنها برای سلامت مصرف‌کننده مفید است، بلکه برای حفظ یکپارچگی غشاء نیز حیاتی است .(Wang et al., 2014)

همچنین در پژوهشی دیگر افزایش فعالیت آنزیم‌های پلی فنل آمونیالیاز نسبت به پلی فنول اکسیداز در گل‌های آنتوریم در پاسخ به تیمار کاربرد خارجی گابا، مسئول افزایش ترکیبات فنولی شده که در نتیجه باعث افزایش ظرفیت مهار DPPH می‌شود (Aghdam et al., 2015).



شکل ۲. اثر تیمار گابا (G_1 =۲/۵ mM و G_2 =۵ mM) روی ظرفیت آنتی اکسیدانی (الف) و پراکسید هیدروژن (ب) میوه‌های موز طی انبارمانی در دمای ۵ درجه سلسیوس. ستاره ها تفاوت معنی داری را بین تیمارهای گابا با شاهد نشان می دهند ($p<۰/۰۵$ *، $p<۰/۰۱$ **، $p<۰/۰۰۱$ ***).

میزان تجمع H_2O_2

میزان تجمع H_2O_2 که از مهمترین شاخص‌های تنش اکسیداتیو در سلول است، تحت انبارمانی در دمای پایین در تیمار شاهد بیش از تیمارهای گابا افزایش یافت (شکل ۲ ب). بنابراین درجه خسارت ناشی از تجمع گونه های اکسیژن فعال و در نتیجه آن درجه تحمل به تنش سرما در تیمارهای گابا با شاهد متفاوت است. در تیمار ۵ میلی مولار گابا میزان H_2O_2 در طی دوره انبارمانی تقریباً ثابت ماند، این نتایج بیانگر ارتباط احتمالی تأثیر پاسخ‌های دفاعی در تیمار گاباست. هم متابولیسم منظم سلولی و هم شرایط تنش زیستی و غیرزیستی متعدد منجر به تولید ROS می شود (Hilal et al., 2023). ROS بسته به غلظت آنها در سلول های گیاهی، نقش دوگانه مفید و یا مضر دارند. غلظت های پایین ROS به عنوان یک پیام رسان ثانویه در مسیرهای انتقال سیگنال که واسطه پاسخ های فیزیولوژیکی متعدد در گیاهان است عمل می کند (Apel & Hirt, 2004). با این حال، تولید بیش از حد ROS در طی تنش می تواند هموستاز سلولی را مختل کند و حتی منجر به مرگ سلولی شود (Aghdam et al., 2016). بنابراین، برای اطمینان از متابولیسم سلولی طبیعی، لازم است سطوح متعادل ROS در یک محدوده مشخص حفظ شود. در طی تنش سرما، تولید بیش از حد ROS باعث آسیب اکسیداتیو به کلروپلاست، میتوکندری و آپوپلاست و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می شود، در نتیجه

نسخه پیش انتشار

سیستم غشایی را از بین می برد، باعث اختلالات متابولیکی می شود و در نهایت منجر به تجزیه سلول می شود (Blokhina et al., 2003). شواهد متعددی نشان داده اند که آسیب ناشی از سرما در میوه ها می تواند تا حدی به عدم تعادل تولید ROS در طی دوره تنش نسبت داده شود. تنش سرمایی سطوح ROS را افزایش می دهد که پراکسیداسیون لیپیدی را تحریک می کند و در نهایت منجر به تخریب غشای سلولی می شود (Mohammadrezakhani et al., 2019). ROS با تولید رادیکال‌های هیدروکسیل پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و آسیب اکسیداتیو را افزایش می‌دهد (Malekzadeh et al., 2017). تیمار گابا تجمع H_2O_2 را کاهش داد و مکانیسم سازگاری با سرما را در گل‌های بریده پرتقال خونی و گلابی افزایش داد (Li et al., 2019; Habibi et al., 2019). روند H_2O_2 در پژوهش حاضر مشابه نتایجی بود که در آن میوه های گیلاس تیمار شده با گابا تولید H_2O_2 را به تاخیر انداختند ((Rabiei et al., 2019. از این رو، نتایج نشان می‌دهد که تیمار گابا ممکن است H_2O_2 و سایر ROS را از بین ببرد و در نتیجه آسیب اکسیداتیو کمتری در میوه‌های موز تیمار شده ایجاد کند.

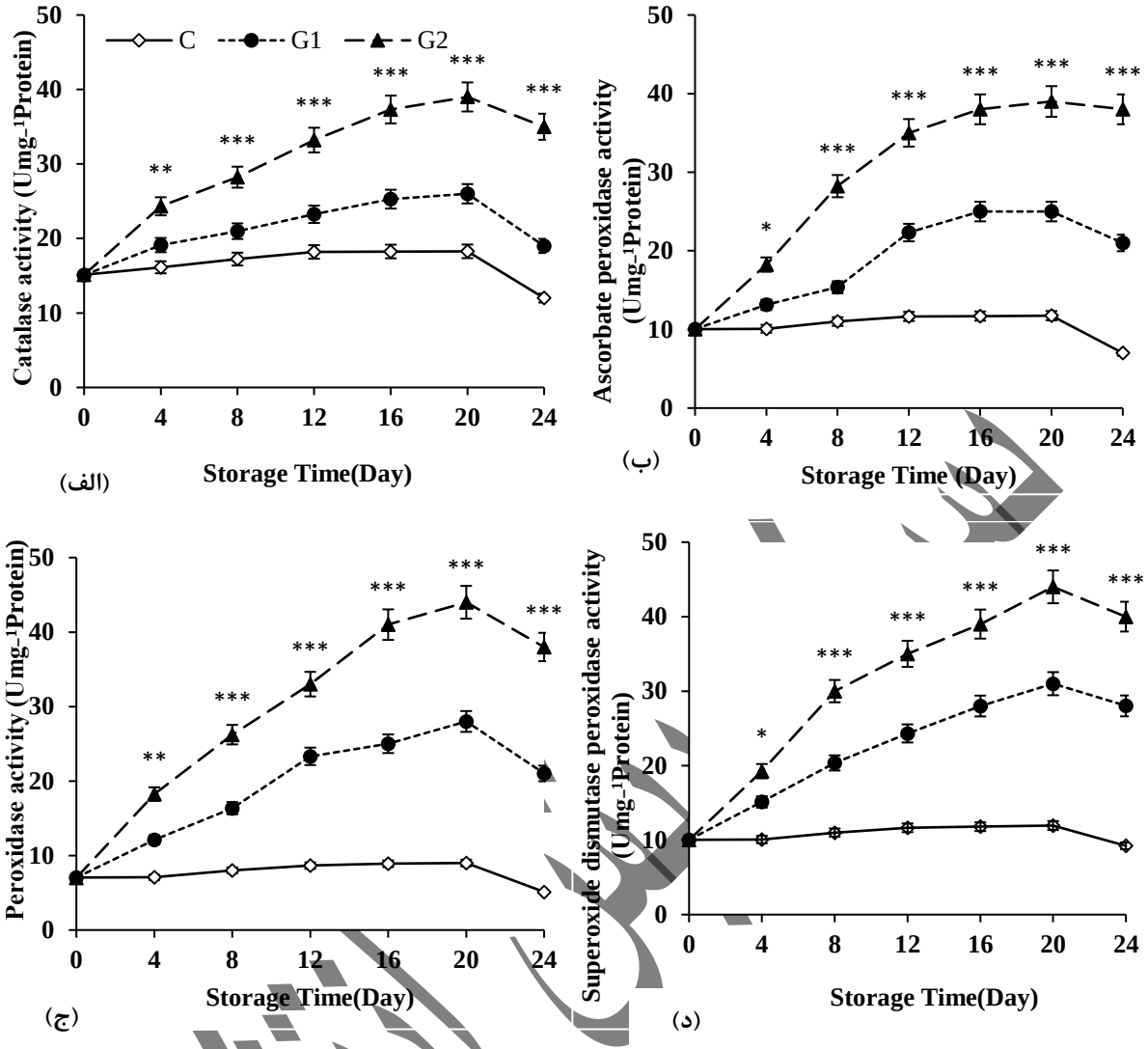
آنزیم های آنتی اکسیدان

تیمار گابا فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، پراکسیداز (POD) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) را در میوه موز در مقایسه با شاهد تحت انبارمانی در دمای پایین افزایش داد (شکل ۳). فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان CAT، APX، POD و SOD تا روز بیستم انبارمانی در دمای پایین مخصوصاً در تیمار ۵ میلی مولار گابا نسبت به دو تیمار دیگر، به طور چشمگیری افزایش یافت و پس از آن در پایان دوره انبار مانی اندکی کاهش پیدا کرد. افزایش غلظت رادیکال‌های آزاد اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود (Renaut et al., 2006). آنزیم کاتالاز غالباً در پروکسی زوم وجود دارد و سبب تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شود (Sudhakar et al., 2001). فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در دوره انبارمانی سرد مخصوصاً در تیمارهای گابا افزایش یافت، بنابراین به نظر می‌رسد این آنزیم، جاروبگر کارآمدی برای حذف پراکسید هیدروژن است و در نتیجه باعث حفاظت بهتر سلول‌ها در برابر پراکسیداسیون می‌شود. مشابه با نتایج ما در پژوهشی گزارش داده شد که تیمار گابا، سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه فرنگی را در طی نگهداری از طریق تحریک فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی کاهش داد که در حفظ انسجام غشای سلولی موثر است (مرادی و همکاران، ۱۳۹۹).

در چرخه آسکوربات–گلوتاتیون، آنزیم آسکوربات پراکسیداز با مصرف آسکوربات به عنوان دهنده الکترون، مقدار پراکسید هیدروژن را کاهش می‌دهد (Shi et al., 2007). در پژوهش حاضر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار گابا به طور معنی‌داری بالاتر از شاهد بود که بیانگر اهمیت نقش آسکوربات پراکسیداز در بافت‌های گیاهی در برابر آسیب اکسیداتیو است.

آنزیم گایاکول پراکسیداز یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی است که پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند. آنزیم پراکسیداز در اکسیداسیون پیش ماده‌های ترکیبات فنلی، ساخت لیگنین و حذف رادیکال های آزاد نقش دارد (Sudhakar et al., 2001). فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر سه تیمار روندی مشابه داشت، اگرچه فعالیت آن در تیمارهای گابا بیش از شاهد بود. بنابراین این آنزیم به طور کارامدی موجب حذف رادیکال‌های آزاد در میوه‌های موز شد. در تأیید این یافته ها در پژوهشی گزارش شد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در قلمه‌های صنوبر در طی دوره سرما افزایش یافت (Luo et al., 2007).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی سلول در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. معمولاً رادیکال سوپراکسید اولین رادیکال آزادی است که در طی تنش تولید می‌شود و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سریعاً رادیکال سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی تبدیل می‌کند و با حذف سوپراکسید نقش حیاتی‌تری را در سیستم آنتی‌اکسیدانتی نسبت به آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ایفا می‌کند، لذا سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شود (Gill & Tuteja, 2010; Shi et al., 2007). در پژوهشی تیمار پس از برداشت گابا با غلظت ۵ میلی مولار باعث کاهش سرمازدگی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند CAT، APX، POD و SOD در میوه‌های هلو شد (Yang et al., 2011). در پژوهشی دیگر روی گیاه فلفل سیاه، تیمار با گابا موجب افزایش مقاومت در برابر تنش اسمزی از طریق افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شد (Vijayakumari & Puthur, 2016).



شکل ۳. اثر تیمار گابا (G_1 =۲/۵ mM و G_2 =۵ mM) روی فعالیت آنزیم کاتالاز (الف)، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (ب)، فعالیت آنزیم پراکسیداز (ج) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (د) میوه‌های موز طی انبارمانی در دمای ۵ درجه سلسیوس. ستاره ها تفاوت معنی داری را بین تیمارهای گابا با شاهد نشان می دهند (*$p<۰/۰۵$، **$p<۰/۰۱$، ***$p<۰/۰۰۱$).

نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که تیمارهای پس از برداشت به کار رفته باعث کاهش نشانه‌های سرمازدگی و حفظ خواص آنتی اکسیدانی میوه‌های موز شدند. در بین تیمارها، غلظت ۵ میلی مولار گابا مؤثرترین تیمار در دوره انبارمانی بود. بنابراین تیمار گابا می‌تواند به عنوان راهکاری کاربردی برای کاهش سرمازدگی و حفظ خواص آنتی اکسیدانی میوه موز رقم کاوندیش در دوره انبارمانی طولانی مدت مورد استفاده قرار گیرد.

References

۱. مرادی، م.، رضوی، ف.، ربیعی، و.، سلیمانی اقدم، م.، و صالحی، ل. (۱۳۹۹). تأثیر تیمار گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) بر سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی. *علوم باغبانی*، ۳۴، ۲۲۱-۲۳۰. https://doi.org/10.22067/JHORTS4.V34I2.78718

2. Aebi, H. E. (1983). Catalase in Methods of Enzyme Analysis. *Bergmeyer*, *3*, 273–285. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-091302-2.50032-3

3. Aghdam, M. S., & Bodbodak, S. (2014). Postharvest heat treatment for mitigation of chilling injury in fruits and vegetables. *Food and Bioprocess Technology*, *7*, 37–53. https://doi.org/10.1007/s11947-013-1207-4

4. Aghdam, M. S., Naderi, R., Jannatizadeh, A., Sarcheshmeh, M. A. A., & Babalar, M. (2016). Enhancement of postharvest chilling tolerance of anthurium cut flowers by γ-aminobutyric acid (GABA) treatments. *Scientia Horticulturae*, *198*, 52–60. https://doi.org/10.22069/JOPP.2019.14927.2393

5. Aghdam, M. S., Naderi, R., Sarcheshmeh, M. A. A., & 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. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.020

6. 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. https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x

7. Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, *55*, 373–399. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701

8. Billiard, F. (1997). Fruit cold storage: Techniques and equipment. *International Symposium Effect of Pre-& Postharvest Factors in Fruit Storage 485*, 61–70. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.485.7

9. Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage, and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, *91*(2), 179–194. https://doi.org/10.1093/aob/mcf118

10. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999

11. Buege, J. A. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, *52*, 302–310. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6

12. Campos, P. S., nia Quartin, V., chicho Ramalho, J., & Nunes, M. A. (2003). Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. plants. *Journal of Plant Physiology*, *160*(3), 283–292. https://doi.org/10.1078/0176-1617-00833

13. Deewatthanawong, R., Nock, J. F., & Watkins, C. B. (2010). γ-Aminobutyric acid (GABA) accumulation in four strawberry cultivars in response to elevated CO2 storage. *Postharvest Biology and Technology*, *57*(2), 92–96. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.03.003

14. D'hont, A., Denoeud, F., Aury, J.-M., Baurens, F.-C., Carreel, F., Garsmeur, O., Noel, B., Bocs, S., Droc, G., & Rouard, M. (2012). The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. *Nature*, *488*, 213–217. https://doi.org/10.1038/nature11241
15. Ding, Z., Tian, S., Zheng, X., Zhou, Z., & Xu, Y. (2007). Responses of reactive oxygen metabolism and quality in mango fruit to exogenous oxalic acid or salicylic acid under chilling temperature stress. *Physiologia Plantarum*, *130*, 112–121. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00893.x
16. Elbagoury, M. M., Turoop, L., Runo, S., & Sila, D. N. (2021). Regulatory influences of methyl jasmonate and calcium chloride on chilling injury of banana fruit during cold storage and ripening. *Food Science & Nutrition*, *9*(2), 929–942. https://doi.org/10.1002/fsn3.2058
17. Fabi, C., Cachia, F., Conforti, P., English, A., & Moncayo, J. R. (2021). Improving data on food losses and waste: From theory to practice. *Food Policy*, *98*, 101934. https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2020.101934
18. "FAOSTAT," 2022. Available: http://www.fao.org/faostat/en/.
19. Fernandes, F. A. N., Rodrigues, S., Gaspareto, O. C. P., & Oliveira, E. L. (2006). Optimization of osmotic dehydration of bananas followed by air-drying. *Journal of Food Engineering*, *77*(1), 188–193. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.058
20. Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909–930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016
21. Habibi, F., Ramezanian, A., Rahemi, M., Eshghi, S., Guillén, F., Serrano, M., & Valero, D. (2019). Postharvest treatments with γ- aminobutyric acid, methyl jasmonate, or methyl salicylate enhance chilling tolerance of blood orange fruit at prolonged cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(14), 6408–6417. https://doi.org/10.1002/jsfa.9920
22. Hardenburg, R. E., Watada, A. E., & Wang, C. Y. (1986). *The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks* (Issue 66). US Department of Agriculture, Agricultural Research Service.
23. Heli, Z., Hongyu, C., Dapeng, B., Yee Shin, T., Yejun, Z., Xi, Z., & Yingying, W. (2022). Recent advances of γ-aminobutyric acid: Physiological and immunity function, enrichment, and metabolic pathway. *Frontiers in Nutrition*, *9*, 1076223. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1076223
24. Herppich, W. B., & Zsom, T. (2021). Comprehensive Assessment of the Dynamics of Banana Chilling Injury by Advanced Optical Techniques. *Applied Sciences*, *11*(23), 11433. https://doi.org/10.3390/app112311433
25. Hilal, B., Khan, T. A., & Fariduddin, Q. (2023). Recent advances and mechanistic interactions of hydrogen sulfide with plant growth regulators in relation to abiotic stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.03.006
26. Janeczko, A., Hura, K., Skoczowski, A., Idzik, I., Biesaga-Kościelniak, J., & Niemczyk, E. (2009). Temperature-dependent impact of 24-epibrassinolide on the fatty acid

composition and sugar content in winter oilseed rape callus. *Acta Physiologiae Plantarum*, *31*, 71–79. https://doi.org/10.1007/s11738-008-0202-2

27. Khademi, O., Ashtari, M., & Razavi, F. (2019). Effects of salicylic acid and ultrasound treatments on chilling injury control and quality preservation in banana fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*, *249*, 334–339. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.018

28. Khaliq, G., Ali, S., Ejaz, S., Abdi, G., Faqir, Y., Ma, J., Siddiqui, M. W., & Ali, A. (2023). γ-Aminobutyric acid is involved in overlapping pathways against chilling injury by modulating glutamate decarboxylase and defense responses in papaya fruit. *Frontiers in Plant Science*, *14*. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1233477

29. Liang, S., Kuang, J., Ji, S., Chen, Q., Deng, W., Min, T., Shan, W., Chen, J., & Lu, W. (2020). The membrane lipid metabolism in horticultural products suffering chilling injury. *Food Quality and Safety*, *4*, 9–14. https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyaa001

30. Luo, L., Lin, S., Zheng, H., Lei, Y., Zhang, Q., & Zhang, Z. (2007). The role of antioxidant system in freezing acclimation-induced freezing resistance of Populus suaveolens cuttings. *Forestry Studies in China*, *9*, 107–113. https://doi.org/10.1007/s11632-007-0016-0

31. Luyckx, A., Lechaudel, M., Hubert, O., Salmon, F., & Brat, P. (2016). *Banana peel physiological post-harvest disorders: A review*. https://doi.org/10.15406/MOJFPT.2016.03.00060

32. Ma, P., Li, T., Ji, F., Wang, H., & Pang, J. (2015). Effect of GABA on blood pressure and blood dynamics of anesthetic rats. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, *8*(8), 14296.

33. Maehly, A., & Chance, B. (1954). Catalases and peroxidases. *Methods Biochem Anal*, *1*, 357–424. https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch14

34. Malekzadeh, P., Khosravi-Nejad, F., Hatamnia, A. A., & Sheikhakbari Mehr, R. (2017). Impact of postharvest exogenous γ-aminobutyric acid treatment on cucumber fruit in response to chilling tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *23*, 827–836. https://doi.org/10.1007/s12298-017-0475-2

35. Marangoni, A. G., Palma, T., & Stanley, D. W. (1996). Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biology and Technology*, *7*(3), 193–217. https://doi.org/10.1016/0925-5214(95)00042-9

36. Mditshwa, A., Khaliq, G., Hussein, Z., & Ejaz, S. (2023). Sustainable postharvest management practices for fresh produce. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *7*, 1143759. https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1143759

37. Mohammadrezakhani, S., Hajilou, J., Rezanejad, F., & Zaare-Nahandi, F. (2019). Assessment of exogenous application of proline on antioxidant compounds in three Citrus species under low temperature stress. *Journal of Plant Interactions*, *14*(1), 347–358. https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1629033

38. Murata, T. (1969). Physiological and biochemical studies of chilling injury in bananas. *Physiologia Plantarum*, *22*(2), 401–411. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1969.tb07392.x

39. Nakano, Y., & Asada, K. (1980). Spinach chloroplasts scavenge hydrogen peroxide on illumination. *Plant and Cell Physiology*, *21*(8), 1295–1307. ttps://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076128
40. Ngaffo Mekontso, F., Duan, W., Cisse, E. H. M., Chen, T., & Xu, X. (2021). Alleviation of postharvest chilling injury of carambola fruit by γ-aminobutyric acid: Physiological, biochemical, and structural characterization. *Frontiers in Nutrition*, *8*, 752583. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.752583
41. Nguyen, T. B. T., Ketsa, S., & Van Doorn, W. G. (2003). Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, *30*(2), 187–193. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00103-0
42. Pongprasert, N., Sekozawa, Y., Sugaya, S., & Gemma, H. (2011). A novel postharvest UV-C treatment to reduce chilling injury (membrane damage, browning and chlorophyll degradation) in banana peel. *Scientia Horticulturae*, *130*(1), 73–77. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.06.006
43. Promyou, S., Ketsa, S., & van Doorn, W. G. (2008). Hot water treatments delay cold-induced banana peel blackening. *Postharvest Biology and Technology*, *48*(1), 132–138. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.006
44. Rabiei, V., Kakavand, F., Zaare- Nahandi, F., Razavi, F., & Aghdam, M. S. (2019). Nitric oxide and γ-aminobutyric acid treatments delay senescence of cornelian cherry fruits during postharvest cold storage by enhancing antioxidant system activity. *Scientia Horticulturae*, *243*, 268–273. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.034
45. Ramos-Ruiz, R., Martinez, F., & Knauf-Beiter, G. (2019). The effects of GABA in plants. *Cogent Food & Agriculture*, *5*, 1670553. https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1670553
46. Renaut, J., Hausman, J., & Wisniewski, M. E. (2006). Proteomics and low- temperature studies: bridging the gap between gene expression and metabolism. *Physiologia Plantarum*, *126*(1), 97–109. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00617.x
47. Saadati, S., Baninasab, B., Mobli, M., & Gholami, M. (2019). Measurements of freezing tolerance and their relationship with some biochemical and physiological parameters in seven olive cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, *41*, 1–11. https://doi.org/10.1007/s11738-019-2843-8
48. Sairam, R. K., & Saxena, D. C. (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *184*(1), 55–61. https://doi.org/10.1046/j.1439-037x.2000.00358.x
49. Sanna, D., Delogu, G., Mulas, M., Schirra, M., & Fadda, A. (2012). Determination of free radical scavenging activity of plant extracts through DPPH assay: An EPR and UV–Vis study. *Food Analytical Methods*, *5*, 759–766. https://doi.org/10.1007/s12161-011-9306-1
50. Shang, H., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., & Zheng, Y. (2011). Effect of exogenous γ-aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(4), 1264–1268. https://doi.org/10.1021/jf104424z

51. Shi, Q., Ding, F., Wang, X., & Wei, M. (2007). Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, *45*(8), 542–550. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.05.005
52. Sudhakar, C., Lakshmi, A., & Giridarakumar, S. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, *161*(3), 613–619. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00450-2
53. Suzuki, N., & Mittler, R. (2006). Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction. *Physiologia Plantarum*, *126*(1), 45–51. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00582.x
54. Valenzuela, J. L., Manzano, S., Palma, F., Carvajal, F., Garrido, D., & Jamilena, M. (2017). Oxidative stress associated with chilling injury in immature fruit: postharvest technological and biotechnological solutions. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(7), 1467. https://doi.org/10.3390/ijms18071467
55. Vijayakumari, K., & Puthur, J. T. (2016). γ-Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in Piper nigrum Linn. plants subjected to PEG-induced stress. *Plant Growth Regulation*, *78*, 57–67. https://doi.org/10.1007/s10725-015-0074-6
56. Wang, N.-N., Yang, Y.-C., Sun, D.-W., Pu, H., & Zhu, Z. (2015). Shelf-life prediction of 'Gros Michel'bananas with different browning levels using hyperspectral reflectance imaging. *Food Analytical Methods*, *8*, 1173–1184. https://doi.org/10.1007/s12161-014-9960-1
57. Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, S., & 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. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.01.022
58. Wisniewski, M., Bassett, C., & Gusta, L. V. (2003). An overview of cold hardiness in woody plants: seeing the forest through the trees. *HortScience*, *38*(5), 952–959. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.38.5.952
59. Wolfe, J. O. E. (1978). Chilling injury in plants—the role of membrane lipid fluidity. *Plant, Cell & Environment*, *1*(4), 241–247. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1978.tb02036.x
60. Yang, A., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., & Zheng, Y. (2011). γ-Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defence response of peach fruit. *Food Chemistry*, *129*(4), 1619–1622. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.018
61. Zhou, C., Dong, W., Jin, S., Liu, Q., Shi, L., Cao, S., Li, S., Chen, W., & Yang, Z. (2022). γ-Aminobutyric acid treatment induced chilling tolerance in postharvest peach fruit by upregulating ascorbic acid and glutathione contents at the molecular level. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1059979. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1059979
62. Zhu, X., Luo, J., Li, Q., Li, J., Liu, T., Wang, R., Chen, W., & Li, X. (2018). Low-temperature storage reduces aroma-related volatiles production during shelf-life of banana fruit mainly by regulating key genes involved in volatile biosynthetic pathways. *Postharvest Biology and Technology*, *146*, 68–78. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.08.015

63. 66. Zsom, T., Strohmayer, E., Phuong Le Nguyen, L., Hitka, G., & Zsom-Muha, V. (2018). Chilling injury investigation by non-destructive measuring methods during banana cold storage. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, *14*, 147–158. https://doi.org/10.1556/446.14.2018.S1.14

نسخه پیش انتشار