Effect of Gamma-aminobutyric acid and Nano zinc Oxide Treatment on Element Uptake, and some Morphological and Phytochemical Characteristics of Hot Pepper (*Capsicum annuum*)

Amer Murad Mohammed Al-sultani [1], Mohammad Fattahi[2*], Javad Rezapour Fard[3]

(Received: September, 2025 Accepted: May, 2025)

Abstract

Vegetables, as a key source of many valuable compounds, play an important role in ensuring food security and human nutrition. Recently, the use of compounds and elements as foliar sprays has improved the quality and growth of plants. Among them, gamma-aminobutyric acid (GABA) is a non-protein amino acid and zinc is an essential nutrient for plants and humans, which play an important role in plant metabolism. This research was carried out as a factorial and completely randomized design with two foliar spray treatments including Nano ZnO and GABA in three replications and their effects on the growth and phytochemical traits of leaves and fruits of hot pepper plant (*C. annuum*) were investigated. In this study, morphological and phytochemical traits (in leaf and fruit tissue) and some elements in leaf tissue were investigated. In all measured traits, the applied treatments showed significant differences compared to the control. The results of morphological traits showed that the highest fruit fresh weight (12.60 g) was obtained in the treatment of 1 mM GABA with a concentration of 0 ppm Nano ZnO, and the highest fruit dry weight (2.47 g) was obtained in the treatment of 2 mM GABA with a concentration of 0 ppm Nano ZnO. The highest phenol content in leaves and fruits was 51.30 (2 mM GABA treatment) and 21.67 mg Gallic acid/gr FW in the combined treatment of 2 mM GABA and 150 ppm Nano ZnO. The highest flavonoid content in leaves and fruits was 6.32 and 4.91 mg quercetin/ gr FW in the combined treatment of 2 mM GABA and 150 ppm Nano ZnO, respectively. The highest antioxidant activity by DPPH method was observed in leaves and fruits, 77.71 % and 46.55 %, respectively. The results showed that in most phytochemical traits, the application of 2 mM GABA along with 150 ppm Nano ZnO increased the synthesis of compounds.

Key words: Antioxidant activities, Coco peat, Copper, Manganese, Total phenols, Total flavonoids

Al-sultani A.M.M, Fattahi M, Rezapour Fard J. 2025. Effect of Gamma-aminobutyric acid and Nano zinc Oxide Treatment on Element Uptake, and some Morphological and Phytochemical Characteristics of Hot Pepper (*Capsicum annuum*). *Applied Soil Research*. 14(1): 100-120.

1. PhD Student, Horticulture department, agriculture Faculty, Urmia University, Urmia, Iran
2. Professor, Horticulture department, agriculture Faculty, Urmia University, Urmia, Iran
3. Assistant Professor, Horticulture Department, Agriculture Faculty, Urmia University, Urmia, Iran.
* Corresponding Author Email: mohamadfattahi@yahoo.com

تاثیر تیمار اسیدآمینه گابا و نانواکسیدروی بر جذب عناصر و برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی فلفل تند (*Capsicum annuum*)

عامر مراد محمد السلطانی [۱]، محمد فتاحی *[۲]، جواد رضاپور فرد [۳]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۳۱)

چکیده

سبزیجات به‌عنوان منبع کلیدی بسیاری از ترکیبات با ارزش، نقش مهمی در تضمین امنیت غذایی و تغذیه انسان دارند. اخیرا استفاده از ترکیبات و عناصر به صورت محلول‌پاشی باعث بهبود کیفیت و رشد گیاهان شده است. در این میان گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) یک اسید آمینه غیرپروتئینی و عنصر روی به عنوان یک ماده مغذی ضروری برای گیاهان و انسان است که نقش مهمی در متابولیسم گیاهان ایفا می‌کنند. این پژوهش بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با دو تیمار محلول‌پاشی شامل نانواکسیدروی و گابا در سه تکرار اجرا شد و تاثیر آنها بر صفات رشدی و فیتوشیمیایی برگ و میوه گیاه فلفل تند (*C. annuum*) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی(در بافت برگ و میوه) و برخی عناصر در بافت برگ مورد بررسی قرار گرفتند. در تمامی صفات اندازه‌گیری شده، تیمارهای اعمال شده نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نشان دادند. نتایج بررسی صفات مورفولوژیک نشان داد بیشترین وزن تر میوه (۱۲/۶۰ گرم) در تیمار یک میلی‌مولار گابا به همراه غلظت صفر میلی‌گرم بر لیتر نانواکسیدروی و همچنین بالاترین میزان وزن خشک میوه (۲/۴۷ گرم) در تیمار دو میلی‌مولار گابا به همراه غلظت صفر میلی‌گرم بر لیتر نانواکسیدروی بدست آمد. بیشترین محتوای فنول در برگ و میوه به ترتیب ۵۱/۳۰ (تیمار ۲ میلی‌مولار گابا) و ۲۱/۶۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر در تیمار ترکیبی دو میلی‌مولار گابا و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسیدروی بدست آمد. بیشترین مقدار فلاونوئید برگ و میوه به ترتیب ۶/۳۲ و ۴/۹۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر در تیمار ترکیبی دو میلی‌مولار گابا و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسیدروی ثبت گردید. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH در برگ و میوه به‌ترتیب ۷۷/۷۱ و ۴۶/۵۵ درصد مشاهده شد. نتایج بدست آمده نشان داد در اکثر صفات فیتوشیمیایی کاربرد ۲ میلی‌مولار گابا به همراه ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی باعث افزایش سنتز ترکیبات شده است.

کلمات کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول کل، فلاونوئید کل، مس، منگنز

السلطانی ع.م.م، فتاحی م، رضاپور فرد ج. ۱۴۰۴. تاثیر تیمار اسیدآمینه گابا و نانواکسیدروی بر جذب عناصر و برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی فلفل تند (*Capsicum annuum*). تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۱۴، شماره ۱. صفحه: ۱۰۰-۱۲۰.

۱- دانشجوی دکترای گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- استاد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

*- پست الکترونیک: mohamadfattahi@yahoo.com

مقدمه

داروهای مشتق شده از گیاهان، چه به صورت خام و چه با استخراج و فرآوری ترکیبات موثره آنها، در پیشگیری و درمان انواع بیماری‌های عفونی و غیرعفونی موثر هستند (Singh *et al*., 2022). سبزیجات منابع کلیدی و سالم از ترکیبات فعال و مفید مانند ویتامین‌ها و موادمعدنی هستند که به جلوگیری از مشکلات تغذیه‌ای کمک می‌کنند. اخیرا مشخص شده است که مصرف سبزیجات تامین‌کننده عناصر کم‌مصرف و متضمن پیشگیری و درمان برخی از بیماری‌های مزمن می‌باشد (Boeing *et al*., 2012). با توجه به نقش مهم سبزیجات در تغذیه انسان، اطلاع از نحوه مصرف آنها به‌منظور دستیابی به امنیت غذایی ضروری است (Issa-Zacharia *et al*., 2024).

گونه‌های مختلف جنس فلفل (*Capsicum* spp.) به‌دلیل استفاده در آشپزی در سراسر جهان شناخته شده هستند. آنها نه تنها به‌عنوان سبزیجات کشت می‌شوند، بلکه به دلیل جنبه‌های دارویی خود در سنتز داروهای متعدد نیز استفاده می‌شوند (Patel *et al*., 2024). امروزه تنوع گسترده‌ای از فلفل‌های شیرین و تند در سراسر جهان به اشکال مختلف مصرف می‌شود. مهمترین انواع آنها، فلفل تند (*C. annuum*) است که در سطح جهانی با تعداد زیاد ارقام تجاری، شناخته می‌شود. فلفل تند از زمان‌های قدیم به عنوان سبزی غذایی، ادویه، رنگ طبیعی و دارو استفاده می‌شود. انواع فلفل تند حاوی سطوح مهمی از رنگدانه‌ها (کلروفیل، آنتوسیانین و لوتئین) با فواید بالقوه برای سلامتی می‌باشند. همچنین ترکیبات شیمیایی برجسته دیگری مانند ویتامین‌ها، مواد معدنی، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و کپسایسینوئیدها در گونه‌های مختلف فلفل وجود دارند. کپسایسین، به عنوان ترکیب فعال اصلی که مسئول طعم تند این گونه‌ها است، نقش مثبتی در سلامتی دارد. مواد موثره فلفل در کاهش وزن بدن و در درمان اختلالات ادراری موثر است. همچنین خواص دیگری مثل آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد سرطان و ضد درد دارد (Hernández-Pérez *et al*., 2020; Antonio *et al*., 2018).

در سال‌های اخیر، استفاده از محرک‌ها به‌عنوان روشی امیدوارکننده برای افزایش قابل‌توجه تولید، بهره‌وری و کیفیت محصولات مثل انواع ادویه‌ها مطرح شده است. الیسیتورها یا محرک‌ها موادی هستند که باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی در گیاهان شده و مجموعه‌ای از مکانیسم‌های مشابه واکنش‌های دفاعی در برابر آلودگی‌های پاتوژن یا محرک‌های محیطی را تحریک می‌کنند. این محرک‌ها متابولیسم گیاه را تحریک کرده و سنتز ترکیبات فعال را تقویت می‌کنند. در نهایت بر تولید ترکیبات تجاری که به کیفیت مواد خام کمک می‌کنند، تأثیر می‌گذارند (Baenas *et al*., 2014). مطالعات مختلف بر اساس تأثیر محرک‌های برون‌زا بر تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، به این نتیجه رسیدند که عوامل غیرزیستی و زیستی بر رشد و تولید این متابولیت‌ها در گیاهان تأثیر می‌گذارند. درک و شناخت و استفاده از این تأثیر می‌تواند به افزایش تولید ترکیبات فعال گیاهی مفید برای کاربردهای مختلف کمک کند (Humbal & Pathak, 2023).

گاما-آمینوبوتیریک اسید (GABA) یک اسید آمینه غیر پروتئینی است که حاوی چهار کربن کاملاً محلول در آب است. میتوکندری گیاهان قادر است گابا را سنتز کند. گیاهان به سرعت گلبا را در پاسخ به برخی تنش‌های غیرزیستی سنتز و ذخیره می‌کنند (Sita & Kumar, 2020). گابا در تنظیم رشد، نمو، پاسخ به تنش و سایر فعالیت‌های مهم در چرخه زندگی گیاهان نقش دارد. تجمع گابا عمدتاً تحت تأثیر عوامل محیطی مانند دما، رطوبت و میزان اکسیژن قرار می‌گیرد. گاما-آمینوبوتیریک اسید در گیاهان به عنوان یک ماده مغذی و سیگنال‌دهنده وجود دارد که در تنظیم متابولیسم و سایر فعالیت‌های فیزیولوژیکی شرکت می‌کند. این ماده را می‌توان در جنین، لپه‌ها، ریشه‌ها، ساقه‌ها، برگ‌ها، گل‌ها، میوه‌ها، دانه‌ها و سایر اندام‌ها در طول رشد گیاهان عالی در غلظت‌های مختلف شناسایی کرد. تیمار گابا به صورت برون‌زاد، از طریق افزایش رشد و نمو، عملکرد و کیفیت گیاه را بهبود می‌بخشد (Heli *et al*., 2022). تجمع گابا فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی از جمله کنترل بسته شدن روزنه‌ها، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، حفظ هموستاز یونی و تثبیت pH سلولی را تنظیم می‌کند. علاوه بر این، گابا با فیتوهورمون‌ها تعامل دارد و رشد، نمو و حتی تحمل به تنش گیاه را تنظیم می‌کند. به‌طور کلی این ماده به عنوان یک ماده متابولیکی دخیل در تنظیم pH، تعادل C/N، رشد گیاه و دفاع گیاه شناخته شده است (Wang *et al*., 2025).

محلول‌پاشی با مواد معدنی روشی برای ارتقای رشد و عملکرد و محافظت از گیاهان در برابر انواع مختلف تنش‌ها

اســـت. در حال حاضـــر تمایل به ارزیابی اثر نانوذرات برای افزایش کمی و کیفی محصولات رو به افزایش است (Zhu *et al*., 2021). روی به عنوان یک ماده مغذی ضـــروری گیاهی و انسـانی، نقش مهمی در متابولیسـم گیاه از جمله واکنش‌های آنزیمی، فتوســـنتز، حفظ یکپارچگی غشـــای ســـلولی و مقاومت در برابر پاتوژن دارد. در ســـطح جهان، کمبود روی منجر به مرگ حدود ۲۸ میلیون نفر در ســـال می‌شـود. کمبود این عنصـر پنجمین عامل مهم بیماری در کشورهای در حال توسعه است. بنابراین، یافتن راهکارهایی برای بهبود محتوای روی در مواد غذایی از اهمیت بالایی برخوردار اســـت (Zhang *et al*., 2017). کودهای روی در روش محلول‌پاشـــی برگی معمولاً به صـــورت حلالت‌های محلول روی مانند $ZnSO_4$، ZnEDTA یا $ZnCl_2$ اســـتفاده می‌شـوند. با این حال، به دلیل اسـتفاده از غلظت‌های پایین برای جلوگیری از سوختگی برگ یا به دلیل جذب ناکارآمد، اغلب مصرف چندین دفعه‌ای ضرورت دارد. بررسی‌ها نشان داده اســـت که اســـتفاده از نانوذرات روی (NPs) به روش محلول‌پاشی از طریق انحلال آهسته و جذب یون‌های روی آزاد شده، Zn^{2+} را به صورت کنترل شده و پایدار به گیاهان عرضه می‌کند (Zhu *et al*., 2021). ZnO-NP ها ویژگی‌های رشد، فتوسنتز، عملکرد و تولید زیست‌توده، کارایی جذب و محتوای مواد مغذی را در قســـمت‌های خوراکی گیاه بهبود داده و محتوای قند، نیتروژن کل و پروتئین را در بســـیاری از محصولات افزایش می‌دهد (Zhang *et al*., 2017).

مطالعات زیادی در مورد تاثیر اسیدآمینه گابا و نانواکسیدروی به طور جداگانه بر روی محصولات مختلف مثل برخی سبزیجات انجام شده است. نتایج گزارش شده حاکی از تاثیر مثبت هر دو ماده بر عملکرد و نیز خصوصیات مورفولوژیکی و صفات فیتوشیمیایی در محصولات می‌باشد. برای مثال در پژوهشی در مورد گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) گزارش شده است که کاربرد گابا خارجی، تا حدودی باعث تعدیل اثرات تنش خشکی می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر گزارش کردند که در گیاه خیار (*Cucumis sativus*)، محلول‌پاشی گابا و اسید آسکوربیک باعث افزایش مقادیر صفات مورفولوژیکی و افزایش راندمان مصرف آب در گیاهان شده است (Zahra *et al*., 2021). در پژوهشی دیگر، گزارش شده است که در گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*)، از نظر شاخص‌های رشدی، عملکرد، صفات فیزیولوژیکی و صفات کیفی، بوته‌های تیمارشده بهترین عملکرد را داشتند.

با توجه به اهمیت غذایی گیاه فلفل، نقش پررنگ اسید آمینه گابا و نیز نانوذرات اکسیدروی در متابولیسم‌های مهم گیاهی از یک طرف و عدم استفاده همزمان این دو ماده در مطالعات قبلی و بررسی اثرات توام آنها بر رشد و عملکرد و همچنین سنتز ترکیبات فعال گیاه فلفل از طرف دیگر، آزمایش حاضر با هدف بررسی تاثیر این دو ترکیب بر ویژگی‌های رشدی و فیتوشیمیایی گیاه فلفل تند اجرا شد.

مواد و روش ها

تهیه و کشت بذر

بذور فلفل تند رقم شیطان قرمز افریقایی مورد استفاده در این آزمایش، از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. بذرها بعد از ۲۴ ساعت خیسانده شدن در آب (به منظور تسریع جوانه‌زنی) در سینی‌های کشت و در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه در اوایل اسفندماه کشت شدند. میانگین حداقل و حداکثر دمای گلخانه به‌ترتیب ۲± ۱۶ و ۲± ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شدت نور $\mu mol.m^{-2}.s$ ۴۰۰-۵۰۰ و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد بود. نشاها در مرحله پنج برگی به گلدان پلاستیکی ۱۰ لیتری منتقل شدند. گلدان‌ها از قبل با نسبت ۱:۱:۱ از پرلیت و کوکوپت و پیت ماس پر شده و آماده انتقال نشاها بودند. تا اتمام دوره رشد (خرداد ماه) به طور منظم و یکنواخت آبیاری سه روز یکبار انجام شد و هفته‌ای یکبار محلول غذایی کامل هوگلند جهت جلوگیری از هر گونه تنش تغذیه‌ای در گلدان‌ها استفاده گردید (Hoagland & Arnon, 1950). با بررسی منابع برای اسید آمینه گابا (سیگما) سه غلظت صفر، یک و دو میلی‌مولار و نانواکسید روی (خریداری شده از شرکت پیشگامان نانو) سه غلظت صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شد. اعمال تیمارها به صورت محلول‌پاشی برگی، در ۳ مرحله (رشد رویشی، آغاز گلدهی و تشکیل میوه) انجام شد. بعد از آغاز محصول‌دهی و رسیدن کامل میوه، برداشت انجام شده و برخی صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی از جمله وزن تر و خشک میوه، طول و قطر میوه، طول و عرض برگ و قطر ساقه، محتوای فنول و فلاونوئید کل برگ و میوه بررسی شدند. زمان انجام آزمایش از کشت بذر تا برداشت محصول

حدود سه ماه و نیم (اسفند تا خرداد ماه) طول کشید.

ویژگی‌های مورفولوژیکی

پس از گذشت ۱۵ روز از اعمال آخرین تیمارها، نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری‌های مورفولوژیک شامل وزن تر و خشک میوه، طول و قطر میوه، طول و عرض برگ و قطر ساقه انجام شد. میوه‌ها جهت خشک شدن و اندازه‌گیری وزن خشک در آون به مدت ۴۸ ساعت و دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده‌شدند. وزن تر و خشک نمونه‌ها به کمک ترازوی دیجیتال و باقی صفات به کمک خط‌کش و کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد.

عصاره‌گیری متانولی جهت سنجش میزان فنول کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

عصاره‌گیری براساس روش علی‌زاده و فتاحی (Alizadeh & Fattahi, 2021) با کمی تغییر انجام گرفت. ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه‌های فریز شده در داخل هاون سرد با ازت مایع پودر گردید. سپس ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به فالکون حاوی پودر نمونه‌ها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک با دمای ۳۵ درجه قرار گرفت تا بافت گیاه به طور کامل متلاشی گردد. پس از این مدت، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۱۰۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوز و از کاغذ صافی عبور داده شد. در نهایت عصاره صاف شده جهت اندازه‌گیری فنول و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار خواهد گرفت.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه به روش FRAP[1]

به منظور سنجش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه، به روش FRAP، مقدار مشخصی از هر عصاره با ۳ میلی‌لیتر از معرف تازه FRAP (۲۵ میلی‌لیتر بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۳/۶، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱۰ میلی‌مولار TPTZ [2] حلال در HCl ۴۰ میلی‌مولار و ۲/۵ میلی‌لیتر $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ۲۰ میلی‌مولار) با هم مخلوط شدند. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و جذب آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نسبت به شاهد خوانده شد و نتایج داده‌ها بر اساس میلی‌مول Fe^{2+} بر گرم وزن تر بیان شد (Zugic *et al*., 2014).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه به روش DPPH[3]

ارزیابی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با روش مهار رادیکال آزاد DPPH انجام گرفت. بدین منظور ابتدا به مقدار مشخصی عصاره متانولی محلول DPPH (۲، ۲- دی فنیل پیکریل هیدرازیل) اضافه و پس از ۳۰ دقیقه اعمال تاریکی در طول موج ۵۱۷ نانومتر و در دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب آن قرائت شد (Chiou *et al*., 2007).

اندازه‌گیری محتوای فنول کل برگ و میوه

جهت ارزیابی میزان فنول کل از روش فولین سیوکالتیو استفاده شد (Yildiz *et al*., 2014). بدین منظور به مقدار مشخصی عصاره متانولی، ۹۰ میکرولیتر آب و ۶۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد اضافه کرده و پس از گذشت ۵ الی ۱۰ دقیقه، ۴۸۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۱۰ درصد اضافه نموده و در نهایت ۲ ساعت در شرایط تاریکی نگه‌داری شده و سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۷۶۵ نانومتر جذب آن قرائت شد. از گالیک اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد.

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل برگ و میوه

برای سنجش میزان فلاونوئید به مقدار مشخصی از عصاره متانولی، ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵٪، ۳۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید ۱۰٪ و ۱۰۰۰ میکرولیتر استات سود ۱ مولار اضافه و سپس با آب مقطر به حجم ۵ میلی لیتر رسانده شد. جذب مخلوط با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۸۰ نانومتر نسبت به شاهد قرائت گردید. از روتین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد (Chang *et al*., 2002).

اندازه‌گیری عناصر مس، آهن، روی و منگنز برگ

مقادیر آهن (Fe)، روی (Zn)، مس (Cu) و منگنز (Mn) گیاه با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Shimadzu 6300 AA) در عصاره حاصل از هضم خشک گیاهان اندازه‌گیری شد. به این صورت که یک گرم نمونه خشک و پودر شده گیاهی به مدت ۵ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه در آون سوزانده شد. در ادامه پس از سرد شدن خاکستر نمونه ها، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به نمونه ها اضافه کرده و محتویات کروزه از کاغذی صافی عبور داده

1- Ferric Reducing Antioxidant Power
2- 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine
3- 2,2-DiPhenyl-1-Picrylhydrazyl

شده و با آب مقطر به حجم نهایی ۵۰ سی سی رسانده شد (Planquart *et al*., 1999). سپس عصاره‌ها با دستگاه جذب اتمی برای هر عنصر قرائت شد.

طرح آزمایشی و تجزیه آماری

آزمایش بصورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل محلول‌پاشی گابا (غلظت‌های صفر، یک و دو میلی‌مولار) و فاکتور دوم محلول‌پاشی نانواکسید روی (غلظت‌های صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها شامل تست نرمال بودن، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، با استفاده از نرم‌افزار SAS (ورژن ۹/۴) انجام شد. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیکی

نتایج واریانس صفات مورفولوژیکی در جدول ۱ گزارش شده است. در این جدول مشاهده می‌شود که در مورد تمام صفات بررسی شده به جز قطر میوه و قطر ساقه، اثر متقابل دو تیمار نانواکسید روی و گابا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. در مورد صفت قطر ساقه، فقط تاثیر اسیدآمینه گابا (در سطح احتمال ۵ درصد) و در مورد صفت قطر میوه نیز اثر هر دو تیمار گابا و نانواکسید روی (در سطح احتمال یک درصد) معنی‌دار بوده است.

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای اسیدآمینه گابا و نانواکسیدروی بر صفات مورفولوژیکی فلفل تند

Table 1. Analysis of variance of the effect of GABA and Nano-ZnO treatments on morphological traits of hot pepper

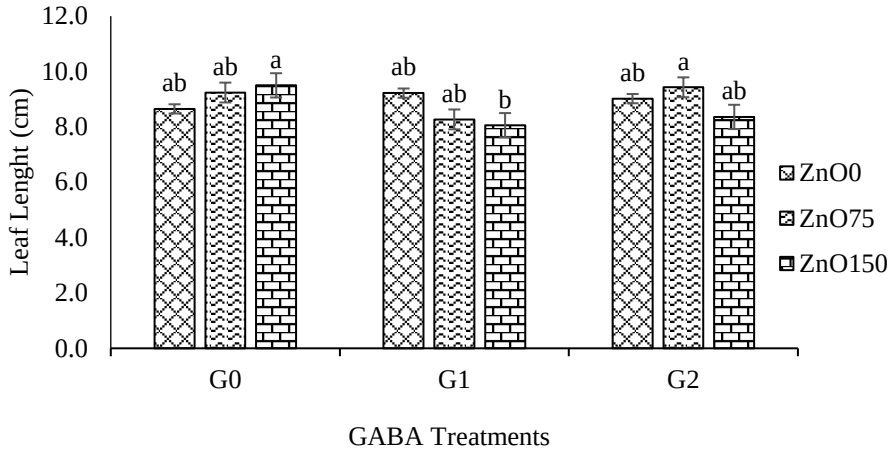
Source of variation	df	Mean Square						
		Leaf length	Leaf width	Stem diameter	Fruits fresh weight	Fruits dry weight	Fruit length	Fruit diameter
A (GABA)	2	0.411^{ns}	0.006^{ns}	0.068*	1.75**	0.377**	0.967**	0.953**
B (Nano-ZnO)	2	0.314^{ns}	0.098^{ns}	0.498^{ns}	20.68**	0.242*	8.941**	1.435**
A*B	4	1.482**	0.303**	0.335^{ns}	3.32**	0.454**	1.797**	0.132^{ns}
Error	18	0.236	0.059	0.139	0.198	0.049	0.134	0.070
CV(%)		5.55	5.60	6.76	4.18	12.32	5.50	8.79

**,* Show significant difference at 1 and 5%, respectively, and ns show non-significant difference.

طول و عرض برگ

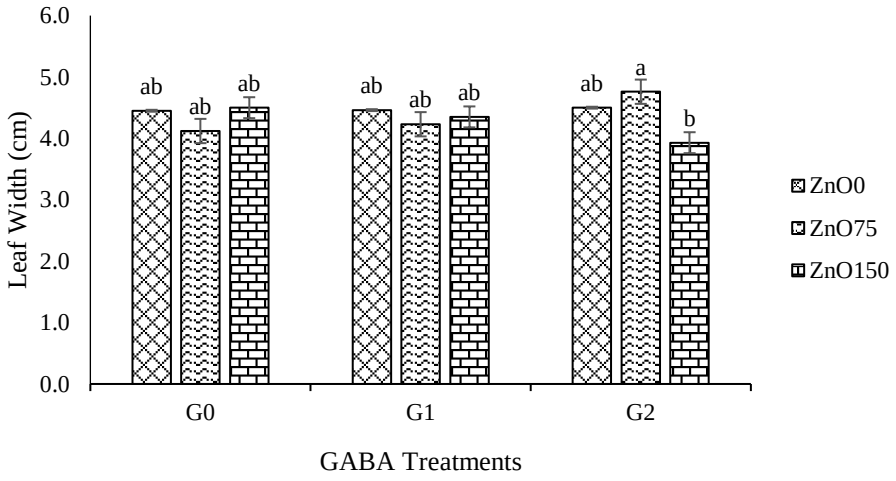
نتایج مقایسه میانگین داده‌های مربوط به مقادیر طول برگ تحت تاثیر تیمارها (شکل ۱) نشان داد که بیشترین میزان طول برگ در تیمار غلظت صفر گابا و غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی و همچنین در تیمار ۲ میلی‌مولار گابا و غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی به ترتیب با مقادیر ۹/۵۰ و ۹/۴۳ سانتی‌متر مشاهده می‌شود. کمترین میزان طول برگ (۸/۰۶ سانتی‌متر) نیز در تیمار گابا یک میلی‌مولار به همراه نانواکسیدروی ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد.

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲) بالاترین میزان عرض برگ (۴/۷۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار اسید آمینه گابا با غلظت ۲ میلی‌مولار به همراه نانواکسیدروی با غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. کمترین مقدار مشاهده شده برای این صفت، در تیمار ۲ میلی‌مولار گابا به همراه غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی با مقدار ۳/۹۳ سانتی-متر بدست آمد.



شکل ۱- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر طول برگ فلفل تند

Figure 1. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on leaf length of hot pepper

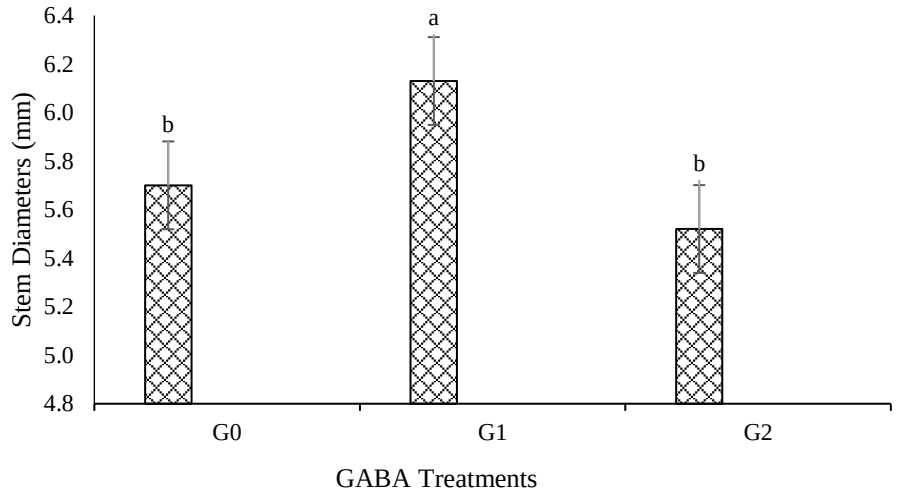


شکل ۲- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر عرض برگ فلفل تند

Figure 2. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on leaf width of hot pepper

قطر ساقه

نتایج مقایسه میانگین داده‌های مربوط به صفت قطر ساقه (شکل ۳) نشان می‌دهد که استفاده از اسیدآمینه گابا در سطح یک میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌داری در قطر ساقه شده است. به طوریکه بیشترین میزان قطر ساقه در تیمار یک میلی‌مولار گابا مشاهده شد و مقدار آن برابر است با ۶/۱۳ میلی‌متر و کمترین مقدار نیز متعلق به تیمار ۲ میلی-مولار با مقدار عددی ۵/۵۲ میلی‌متر است.



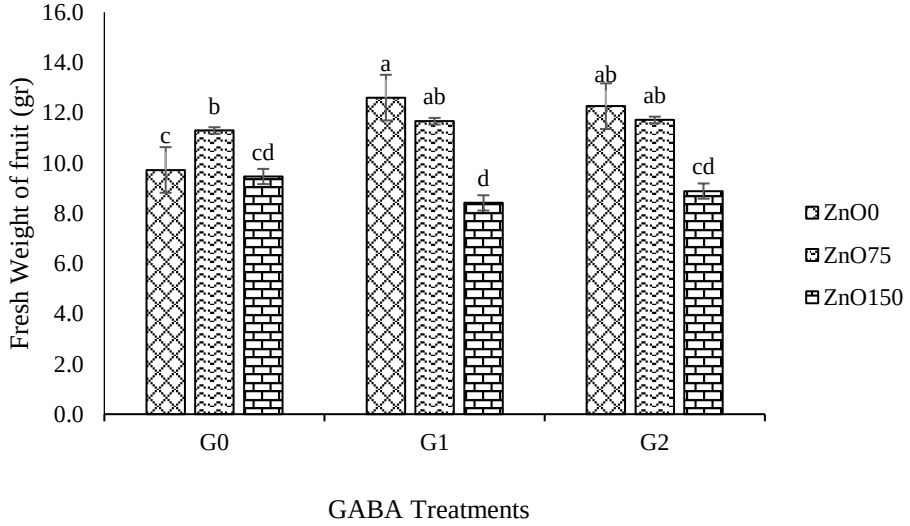
شکل ۳- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر قطر ساقه فلفل تند

Figure 3. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on stem diameter of hot peppe

وزن تر و خشک میوه

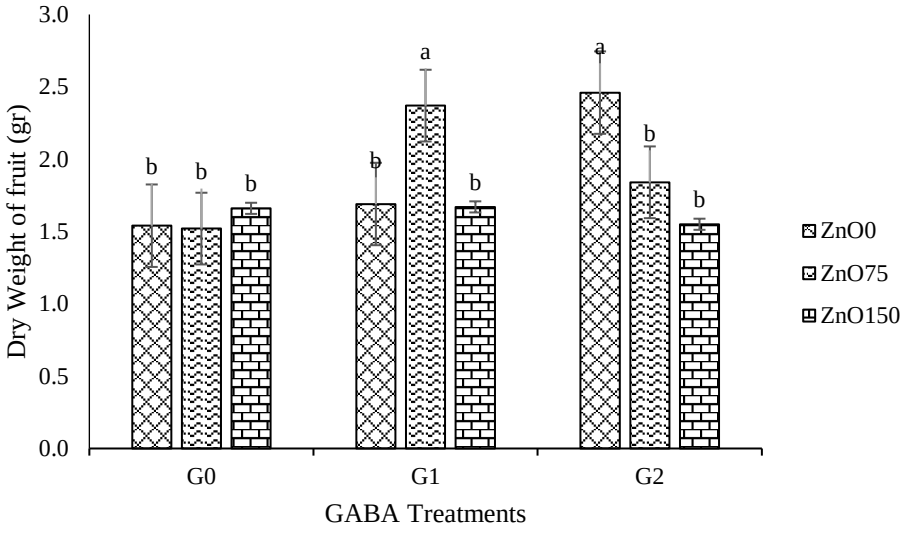
نتایج مقایسه میانگین تاثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر صفات وزن تر و خشک میوه در شکل‌های ۴ و ۵، تاثیر معنی‌دار این دو تیمار را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، بیشترین میزان وزن تر میوه (۱۲/۶۰ گرم) در تیمار یک میلی‌مولار گابا و بدون مصرف نانواکسید روی بدست آمد.کمترین میزان وزن تر میوه نیز در تیمار یک میلی‌مولار گابا همراه با غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نانواکسید روی ثبت شد که مقدار آن ۸/۴۱ گرم می‌باشد.

در مورد صفت وزن خشک نیز نتایج مقایسه میانگین که در شکل ۵ گزارش شده است، نشان می‌دهد بیشترین وزن خشک میوه متعلق به تیمارهای دو میلی‌مولار گابا و دو میلی‌مولار گابا همراه با نانواکسید آهن ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر اسیدآمینه گابا به ترتیب به مقدار ۲/۴۶ و ۲/۳۷ گرم بوده است. و کمترین میزان وزن خشک نیز در شاهد به مقدار ۱/۵۲ گرم مشاهده و ثبت شده است.



شکل ۴- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر وزن تر میوه فلفل تند

Figure 4. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on fruits fresh weight of hot pepper

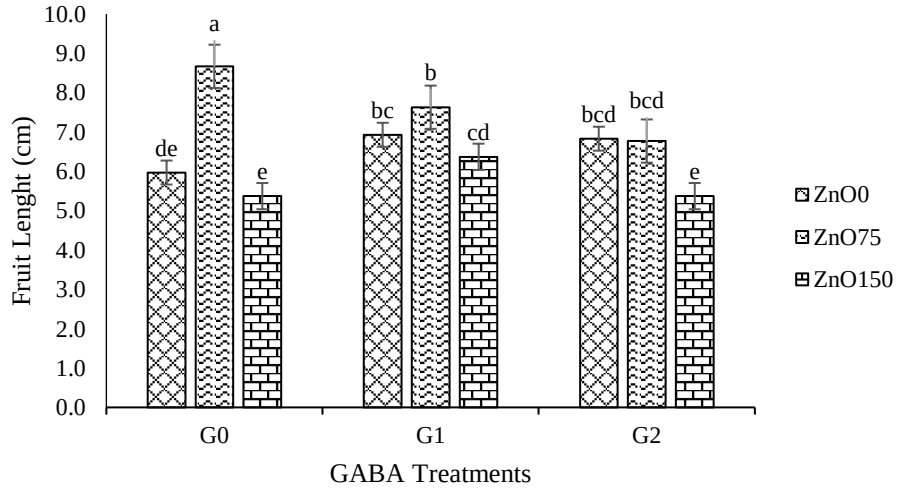


شکل ۵- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر وزن خشک میوه فلفل تند

Figure 5. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on fruits dry weight of hot pepper

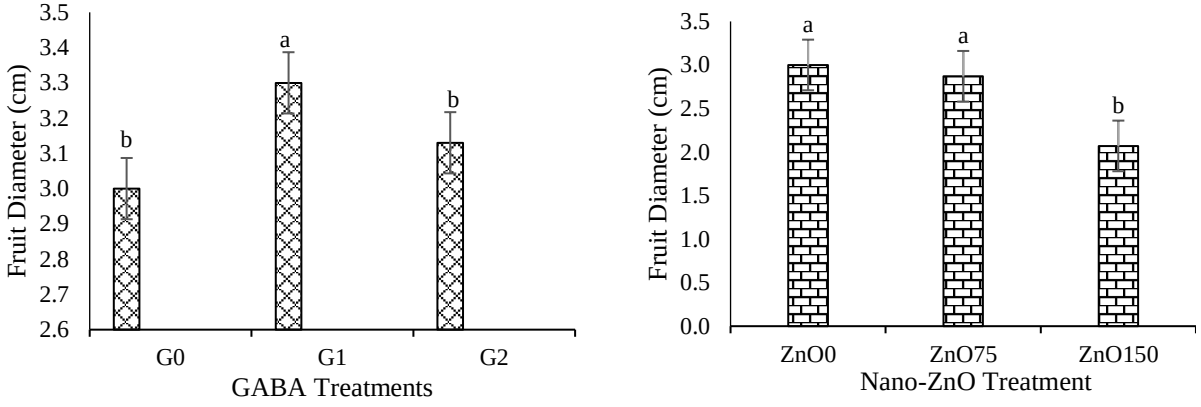
طول و قطر میوه

شکل ۶ نتایج مقایسه میانگین تاثیر متقابل دو تیمار گابا و نانواکسیدروی را بر طول میوه‌های فلفل تند را نشان می‌دهد. بیشترین مقدار طول میوه (۸/۶۷ سانتی‌متر) مربوط به تیمار صفر میلی‌مولار گابا و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسیدروی بود. کمترین میزان این صفت (۵/۳۷ سانتی‌متر) نیز در تیمارهای صفر گابا و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی و تیمار ۲ میلی‌مولار گابا به همراه ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی مشاهده شد. در مورد قطر میوه، تیمار گابا باعث افزایش قطر میوه شده است. به‌طوری که بیشترین مقدار قطر میوه متعلق به غلظت یک میلی‌مولار (۳/۳۰ سانتی متر) و کمترین نیز متعلق به شاهد (۳ سانتی‌متر) بوده است. در تیمار نانواکسید روی با افزایش غلظت، مقدار قطر میوه کاهش یافته است (شکل ۷).



شکل ۶- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر طول میوه فلفل تند

Figure 6. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on fruits fresh lenght of hot peppe



شکل ۷- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر قطر میوه فلفل تند

Figure 7. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on fruits diameter of hot pepper

بررسی نتایج بدست آمده برای صفات مورفولوژیکی نشان می‌دهد که کاربرد ترکیبی تیمارهای مورد بررسی در اکثر صفات نتایج مثبتی نداشته است. کاربرد گابا یا نانواکسید روی به تنهایی در برخی صفات تاثیر مثبت داشته است. افزایش وزن تر و خشک و اندازه میوه، صفات باارزشی در مورد محصولاتی نظیر فلفل هستند که به خوبی تحت تاثیر تیمارها قرار گرفته‌اند. نکته قابل توجه این است که در مصرف باهم دو تیمار، بالاترین غلظت هردو باهم تاثیر منفی داشته است.

گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA)، یک اسید آمینه غیرپروتئینی و یک جزء مهم از مخزن اسیدآمینه آزاد موجودات زنده از جمله گیاهان است (Romos *et al.*, 2018). چندین عملکرد برای گابا در گیاهان به تفصیل شرح داده شده است (Podlešáková *et al.*, 2019). علاوه بر نقش‌های متابولیکی، گابا به عنوان یک مولکول سیگنال دهی درون‌زا در تنظیم رشد گیاه عمل می‌کند (Carillo., 2018). علاوه بر این، به نظر می‌رسد که یک جزء مهم در تنظیم متابولیسم نیتروژن و در نهایت کربن باشد (Bouche & Fromm., 2004). شواهد قوی وجود دارد که نشان می‌دهد گابا در میانجی‌گری تحمل نسبت به انواع تنش‌های محیطی مانند نور کم، شوری، گرسنگی نیتروژن، خشکی یا دما نقش دارد. نقش‌های مختلف گابا در گیاهان ممکن است از نظر عملکردی مرتبط و جدا کردن آنها از یکدیگر دشوار باشد. گابا درون‌زا عمدتا از گلوتامات توسط فعالیت آنزیم سیتوزولی گلوتامات دکربوکسیلاز (GAD) تشکیل می‌شود. در ماتریکس میتوکندری، از طریق به اصطلاح شنت گابا متابولیزه می‌شود که با واکنش‌های فیزیولوژیکی مختلف از جمله شار کربن به چرخه اسید تری کربوکسیلیک (TCAC)، تنظیم pH سیتوزولی، تنظیم اسمزی و تولید انرژی و سیگنال‌دهی مرتبط است. اتصال شنت گابا با TCAC در نهایت متابولیسم کربن و نیتروژن در گیاهان را به هم مرتبط می‌کند (Shelp, Bown, & Zarei., 2017). پس از جذب توسط سلول‌های گیاهی، گابا به صورت برون‌زا مانند گابا درون‌زا عمل می‌کند. نشان داده شده است که گابا برون‌زا می‌تواند تغییرات سطح گابا درون‌زا را تحت شرایط بدون تنش و تنش ایجاد کند (Cekic, 2018). کاربرد گابا می‌تواند بر مراحل مختلف رشد و ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاهان تأثیر بگذارد. گزارش شده است که در گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays*)، کاربرد گابا به طور قابل‌توجهی وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان را بهبود بخشید. این طور به نظر می‌رسد، گابا با تاثیر مثبت بر مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متفاوت، نظیر نرخ خالص فتوسنتز، شاخص سبزینگی (SPAD)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های متابولیسم نیتروژن، به طور مثبت بر رشد گیاهان تأثیر می‌گذارد (Li *et al.*, 2016). تامین مواد مغذی در گیاهان که برای متابولیسم‌های حیاتی آن‌ها بسیار ضروری بوده و منجربه رشد می‌شود، به جذب از طریق ریشه و فتوسنتز بستگی دارد. مسیر متابولیک گابا بین سیتوزول و ماتریکس میتوکندری انجام می‌شود و فرآیند حمل و نقل گابا، این توانایی را دارد که فتوسنتز را از طریق ماتریکس میتوکندری افزایش دهند. تغییرات غذایی در گیاهان باعث ایجاد تغییراتی در جذب و

متابولیسم از طریق سیستم‌های پیچیده می‌شود. به نظر می‌رسد حمل و نقل گابا همسو با بخشی از مسیرهای متابولیک درگیر در تعادل بین کربن و نیتروژن می‌باشد که از طریق جذب کربن از گلوتامات و نیز شار کربن از طریق چرخه TCA فعالیت می‌کند (Michaeli & Fromm, 2015).

در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است که گابا بر ویژگی‌های رشدی گیاهان مختلف نظیر جو (*Hordeum vulgare*) (Wang *et al*., 2021)، ماش (*Vigna radiate*) (Wang *et al*., 2023)، ذرت (Aljuaid *et al*., 2022) و گوجه فرنگی (Wu *et al*., 2020) تاثیر مثبت داشته است. روی یک ریز مغذی ضروری برای رشد محصول، یک جزء مهم آنزیم کربنیک انیدراز و یک محرک آلدولاز است که در متابولیسم کربن نقش دارند. روی همچنین جزء جدایی ناپذیر چندین مولکول زیستی مانند لیپیدها، پروتئین ها و فاکتور کمکی اکسین است و بنابراین نقش مهمی در متابولیسم اسید نوکلئیک گیاه دارد. کاربرد روی در بهبود عملکرد و کیفیت محصول مفید است (Hassan *et al*., 2019)، در حالی که کمبود آن باعث کاهش عملکرد و بدتر شدن کیفیت محصول می شود (Chattha *et al*., 2017). علاوه بر این، مقادیر بالای روی دارای اثرات سمی روی گیاهان است و منجر به سرکوب تقسیم سلولی و افزایش طول می‌شود و بر تولید زیست توده تأثیر می‌گذارد. مطالعات کمتری نشان داده است که عرضه کافی روی می‌تواند تحمل به خشکی را در محصولات مختلف مانند گندم (*Triticum*) ، آفتابگردان (*Helianthus annuus*)، گوجه فرنگی و کلم قرمز (*B. oleracea* var. capitata F. rubra) تعدیل کند (Eslami *et al*., 2014). روی یک ماده مغذی اساسی برای گیاهان است زیرا به عنوان یک عنصر فلزی و عامل کمکی بسیاری از آنزیم‌ها نقش حیاتی ایفا می‌کند (Hera *et al*., 2018). علاوه بر این، گزاراش شده است که کاربرد روی منجر به افزایش قابل ملاحظه سطح برگ، محتوای کلروفیل و سایر رنگدانه‌های فتوسنتزی و هدایت روزنه‌ای می‌شود و در نتیجه رشد و عملکرد را بهبود می‌بخشد (Sultana *et al*., 2016). همچنین کاربرد روی موجب بهبود پایداری غشاء، سنتز هورمون، فرآیند فتوسنتزی و حذف رادیکال‌های آزاد حتی در شرایط خشکی می‌گردد. روی عملکردهای زیادی در گیاهان دارد زیرا یک جزء کاتالیزوری ساختاری و کمک کاتالیزوری بیش از ۳۰۰ آنزیم از جمله کربنیک انیدراز، کربوکسی پپتیداز، الکل دهیدروژناز، سوپراکسید دیسموتاز مس/روی، فروکتوز ۱،۶ بیس فسفاتاز و آلدولاز است. کمبود روی باعث کاهش فعالیت کربنیک انیدراز موثر بر فتوسنتز می‌شود. کاربرد روی از طریق پشتیبانی ساختار روبیسکو می‌تواند به‌طور غیرمستقیم در ترمیم فعالیت فتوسیستم II و در نهایت فتوسنتز موثر باشد (Chattha *et al*., 2017). علاوه بر این، روی بر غلظت مواد مغذی درگیر در سنتز کلروفیل و در دسترس بودن سایر مواد مغذی از جمله نیتروژن و منیزیم، که به عنوان اجزای سازنده در ساختار مولکولی کلروفیل عمل می‌کنند، تأثیر می‌گذارد (Dehnavi *et al*., 2017). بنابراین، کاربرد روی باعث بهبود فعالیت‌های آنزیمی و محتوای کلروفیل می‌شود. ROS را سم‌زدایی می‌کند و ساختار روبیسکو را حفظ می‌کند. همه اینها منجر به بهبود قابل توجهی در رشد و عملکرد محصول می‌شود (Umair Hassan, 2020). نانوتکنولوژی یک جایگزین دوستدار محیط زیست است که غلظت و متابولیسم هدفمند مواد مغذی و همچنین احتیاجات فتوسنتزی محصول انتخابی را افزایش می‌دهد. نانو اکسیدروی (ZnO) با تنظیم فعالیت‌های فتوسنتزی اولیه و متابولیسم کربوهیدرات‌ها به عنوان یک جایگزین مهم و موثر برای افزایش رشد و بهره‌وری شناخته شده است (Fatemi *et al*., 2020). نانو مواد که نانوکود نیز نامیده می‌شوند، استفاده از کودهای مصنوعی را کاهش می‌دهد و در عین حال دسترسی هدفمند به مواد مغذی را برای جذب گیاه و دریافت آن توسط انسان در دانه‌های خوراکی افزایش می‌دهد و این به دلیل سطح ویژه آن‌هاست. کاربرد محلول پاشی نانوکود به طور گسترده برای افزایش تغذیه و بهره‌وری گیاه گزارش شده است، زیرا به طور موثرتری وارد غشای سلولی می‌شود و به متابولیسم پروتئین‌ها، قندها و اسیدهای آمینه و فتوسنتز گیاهان برای افزایش کارایی استفاده از مواد مغذی و کاهش محدودیت‌های محیطی کمک می‌کند (Weisany *et al*., 2021). محلول پاشی ZnO به دلیل سطح ویژه بزرگ و جذب مستقیم از طریق روزنه و کوتیکول و سپس انتقال از طریق آبکش به کلروپلاست، نسبت به کاربرد روی ریشه/خاک استراتژی مناسب‌تر و سریع‌تری است (Zhu *et al*., 2020). تحویل نانو روی باعث افزایش رشد گیاه، بهره‌وری و غلظت روی در بافت‌های گیاهی می‌شود (Dimkpa *et al*., 2022). با این حال، به دلیل ماهیت و اندازه ذرات، این مزایا هنوز باید در مقیاس میدانی تطبیق داده شوند (Sudhakaran *et*

al., 2020). درواقع فرم نانو روی تمام نقش‌های ذکر شده برای فرم معدنی را با کارایی بهتر انجام می‌دهد. همانطور که اشاره شد روی با نقش کلیدی در متابولیسم‌های مهم مثل فتوسنتز و سنتز پروتئین‌ها، نقش مهمی در متابولیسم اولیه گیاه دارد که نتیجه آن رشد است. بنابراین باتوجه به نقش‌های ذکر شده برای گابا و نانواکسید روی، نتایج گزارش شده در این پژوهش توجیه‌پذیر است.

صفات فیتوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی برگ و میوه نشان می‌دهد که اثرات متقابل تیمار گابا و نانواکسیدروی بر کلیه صفات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری شده به استثناء فنول کل برگ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه (به روش FRAP) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در مورد فنول کل برگ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه (به روش FRAP) نیز اثرات ساده تیمار گابا و نانواکسید روی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای اسیدآمینه گابا و نانواکسیدروی بر صفات فیتوشیمیایی برگ و میوه فلفل تند

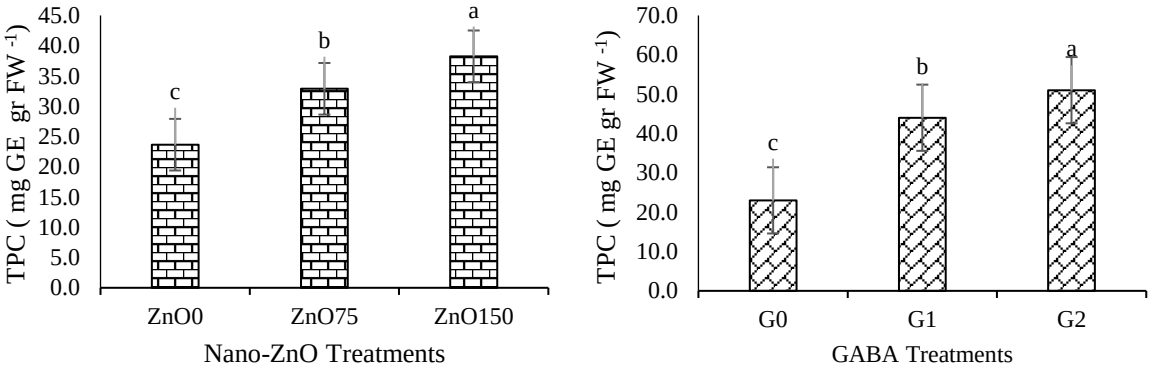
Table 2. Analysis of variance of the effect of GABA and Nano-ZnO treatments on phytochemical traits of hot pepper leaves and fruits

Source of variation	df	Mean Square							
		Leaf Total Phenol	Leaf Total Flavonoid	Leaf Antioxidant activity (DPPH)	Leaf Antioxidant activity (FRAP)	Fruit Total Phenol	Fruit Total Flavonoid	Fruit Antioxidant activity (DPPH)	Fruit Antioxidant activity (FRAP)
A (GABA)	2	22087872.68**	3198.3357^{ns}	69.755026*	0.952900**	124383.56**	29789.2188*	451.7205540**	0.43024035**
B (Nano- ZnO)	2	5402884.00**	154356.196**	3106.7016**	0.39401111**	1218569.63**	190050.6706**	132.2739763**	0.75508015**
A*B	4	277661.17^{ns}	34363.9238**	11.9362**	0.03047778**	40150.34**	144088.3827**	44.4424015**	0.02222383^{ns}
Error	18	147626.44	2955.30	15.748	0.015	6206.467	7630.972	9.211	0.0136
CV (%)		8.03	10.34	8.54	21.46	4.51	21.26	10.01	20.06

**,* Show significant difference at 1 and 5%, respectively, and ns show non-significant difference.

محتوای فنول کل (TPC) برگ و میوه

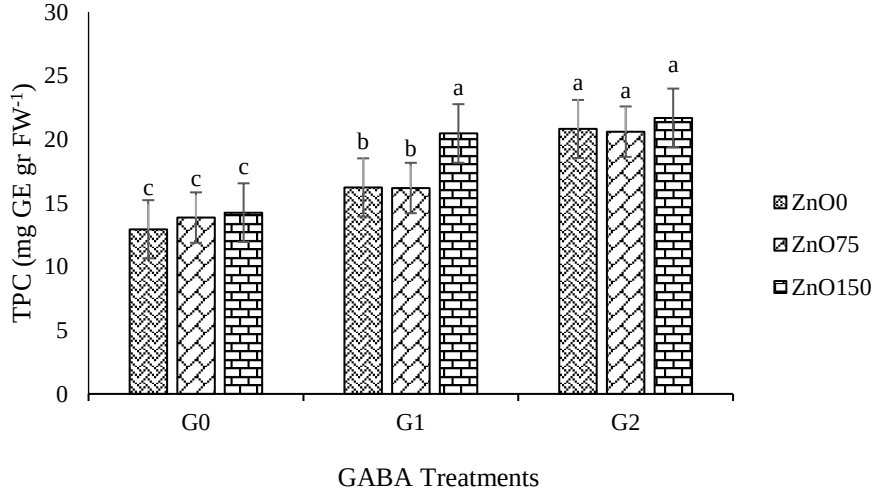
همانطور که در جدول ۲ آمده است، دوتیمار گابا و نانواکسیدروی به طور جداگانه تاثیر معنی‌داری بر محتوای فنول کل برگ و میوه داشته‌اند، اما اثرات متقابل آنها معنی-دار نبوده است. در مورد تیمار گابا در اندام برگ، در غلظت دو میلی‌مولار بیشترین محتوای فنول کل به میزان ۵۱/۳۰ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده تر برگ مشاهده شد و شاهد کمترین میزان محتوای فنول کل (۲۳/۶۴ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده تر برگ) را داشت. در تیمار نانواکسیدروی نیز بیشترین محتوای فتول کل در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر با مقدار ۳۸/۲۴ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده تر برگ و کمترین میزان نیز متعلق به شاهد بود.



شکل ۸- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر محتوای فنول کل برگ فلفل تند

Figure 8. Effect of foliar application o f GABA and Nano-ZnO on total phenol content of hot pepper's leaves

کاربرد همزمان دوتیمار گابا و نانواکسیدروی تاثیر معنی‌داری بر محتوای فنول کل اندام میوه، داشته است. بیشترین میزان مشاهده شده برای محتوای فنول کل در اندام میوه (۲۱/۶۷ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده تر) متعلق به تیمار ترکیبی غلظت ۲ میلی‌مولار گابا به همراه ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی بوده است.کمترین میزان نیز همانند اندام برگ متعلق به شاهد است. در واقع همانطور که در شکل ۸ و ۹ مشاهده می‌شود، افزایش غلظت دوتیمار گابا و نانواکسید روی در هر دو اندام برگ و میوه باعث افزایش محتوای فنول آنها شده است.

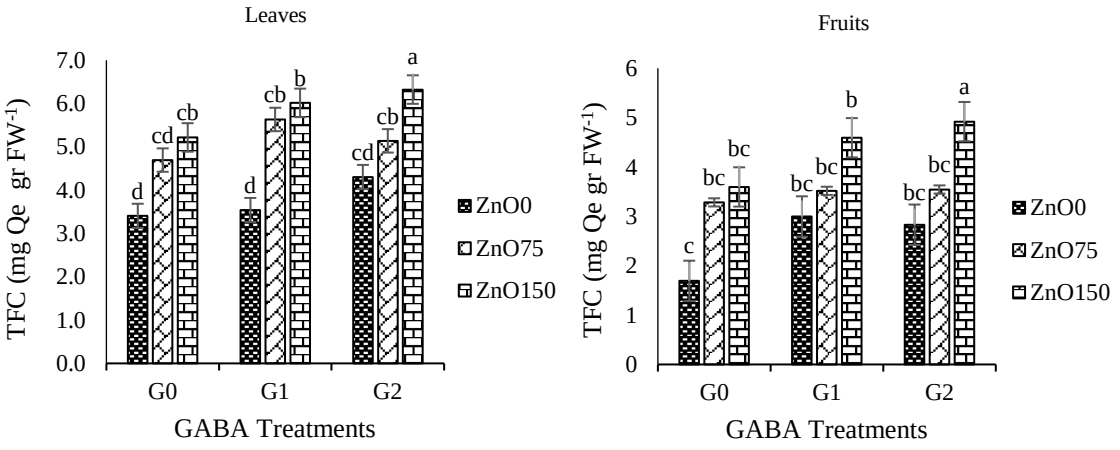


شکل ۹- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر محتوای فنول کل میوه فلفل تند

Figure 9. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on total phenol content of hot pepper's Fruits

محتوای فلاونوئید کل (TFC) برگ و میوه

در هر دو اندام برگ و میوه فلفل تند کاربرد ترکیبی دو تیمار باعث افزایش معنی‌دار محتوای فلاونوئید کل شده است. در هر دو اندام برگ و میوه بیشترین میزان فلاونوئید برای تیمار ترکیبی اسید آمینه گابا با غلظت دو میلی‌مولار به همراه نانواکسیدروی ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شده است. که مقدار آنها به ترتیب ۶/۳۲ و ۴/۹۱ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر است. در هر دو اندام نیز کمترین میزان در شاهد مشاهده شد. در مورد محتوای فلاونوئید کل نیز مثل محتوی فنول کل، افزایش غلظت تیمارها، باعث افزایش مقدار فلاونوئید کل شده است.

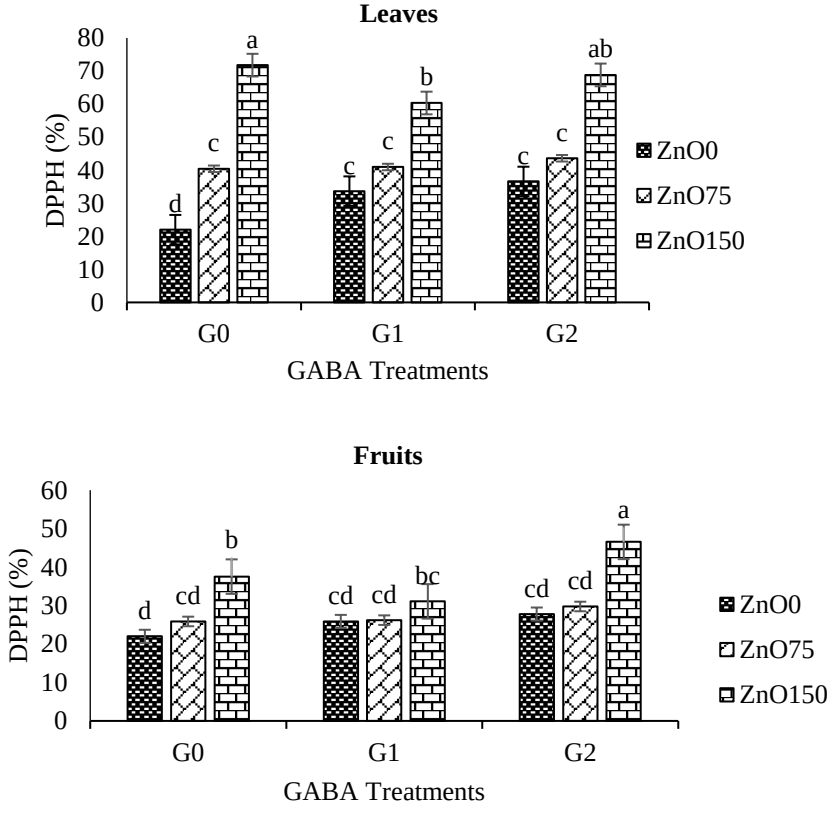


شکل ۱۰– تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر محتوای فلاونوئید کل برگ و میوه فلفل تند

Figure 10. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on total flavonoid content of hot pepper's leaves and Fruits

فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه به روش DPPH

بیشترین میزان برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بافت برگ متعلق به تیمار نانواکسید روی با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به میزان ۷۱/۷۷ درصد و بعد از آن تیمار ترکیبی گابا دو میلی‌مولار همراه با نانواکسید روی ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به میزان ۶۸/۸۱ درصد است. در بافت میوه نیز بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به تیمار ترکیبی نانواکسیدروی ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و گابا دو میلی‌مولار با مقدار ۴۶/۵۵ درصد تعلق دارد. در هر دو اندام کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شاهد مشاهده شده است.

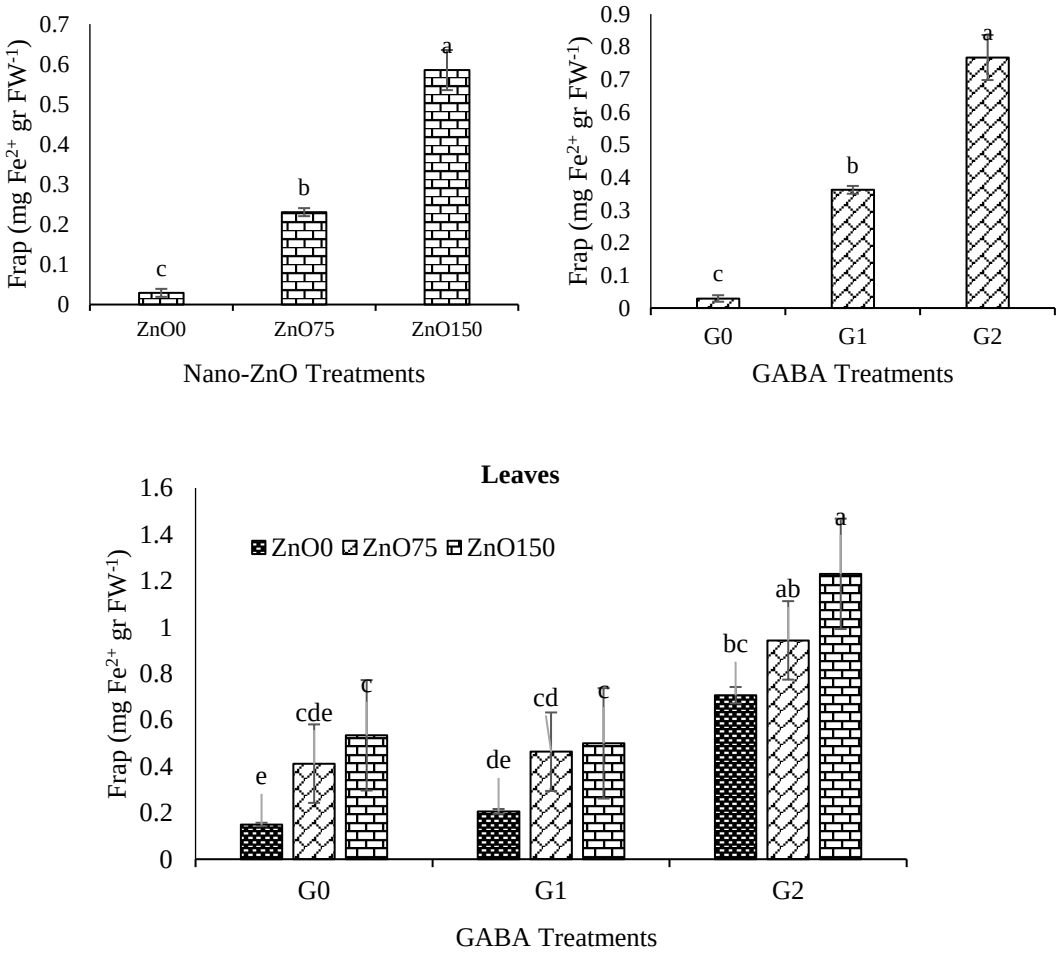


شکل ۱۱– تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ و میوه فلفل تند

Figure 11. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on antioxidant activity of hot pepper's leaves and Fruits

فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه به روش FRAP

در سنجش به روش FRAP بیشترین میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی در اندام برگ در تیمار ترکیبی دو میلی‌مولار گابا و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر ZnONPs با مقدار ۱/۲۳ میلی‌گرم Fe^{2+} در گرم وزن تر مشاهده شد. در اندام میوه اثرات متقابل تیمار گابا و نانواکسیدروی معنی‌دار نشده است. اما محلول-پاشی تکی هرکدام تاثیر معنی‌داری در فعالیت آنتی-اکسیدانی اندام میوه به روش FRAP داشته است. در تیمار گابا بالاترین میزان در تیمار دو میلی‌مولار مشاهده شد که مقدار آن ۰/۷۶ میلی‌گرم Fe^{2+} در گرم وزن تر است و در تیمار نانواکسیدروی بیشترین مقدار ۰/۵۸ میلی‌گرم Fe^{2+} در گرم وزن تر می‌باشد که در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. در تمامی‌حالت‌ها کمترین میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی به شاهد تعلق دارد.



شکل ۱۲– تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ و میوه فلفل تند

Figure 12. Effect of foliar application of GABA and Nano-ZnO on antioxidant activity of hot pepper's leaves and Fruits

در بررسی محتوای فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه، در تمامی فاکتورها تیمار ترکیبی اسیدآمینه گابا دو میلی‌مولار با ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسیدروی بهترین تاثیر را داشته است. در مورد صفات مورفولوژیکی این تیمار بدترین اثر را داشته است. آنچه مشخص می‌شود این است که بالاترین غلظت‌های دو تیمار در کنار هم باعث وقوع تنش و خارج شدن گیاه از مسیر عادی رشد خود می-شود و متابولیسم گیاه از تولید متابولیت‌های اولیه به سمت تولید متابولیت‌های ثانویه و مقاومت به تنش پیش‌آمده، پیش می‌رود.

فلاونوئیدها، از جمله ایزوفلاونوئیدها، کالکون‌ها، فلاون‌ها، فلاونول‌ها، فلاوانون‌ها و آنتوسیانین‌ها، متابولیت‌های ثانویه

فنلی مهم در گیاهان هستند که از طریق مسیر متابولیکی فنیل پروپان سنتز می‌شوند. آنها مقاومت در برابر بیماری را در گیاهان تقویت می‌کنند و خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و ضدپیری را در انسان نشان می‌دهند (Chen *et al*., 2019). با این حال، آنها همچنین می‌توانند توسط چندین عامل برون‌زا تعدیل شوند، زیرا با استفاده از یک فرآیند بیوشیمیایی پیچیده شامل مسیرهای سیگنالینگ مختلف سنتز می‌شوند (Zhao *et al*., 2021). گزارش شده است که گابا برون‌زا متابولیسم گابا درون‌زا و فعالیت ترانس-آمینازگابا و محتوای اکسوگلوتارات را افزایش می‌دهد که وارد متابولیسم نیتروژن شده و فعالیت و بیان آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم نیتروژن را افزایش می‌دهد تا اسیدهای آمینه و پپتیدهای فعال زیستی را انباشته کند. در همین حال، گابا برون‌زا با افزایش فعالیت و بیان آنزیم‌های بیوسنتزی فلاونوئید، متابولیسم فلاونوئیدها، از جمله فلاونوئیدهای تام، آنتوسیانین‌ها و انواع دیگر را القا می‌کند. درواقع، گابا در بهبود پپتیدهای فعال زیستی، ایزوفلاون‌ها، آنتوسیانین‌ها، قندها و اسیدهای آلی نقش بسیار فعالی دارد (Yu *et al*., 2022). در گزارشی دیگر در محصول سویا (*Glycine max*)، آمده است که گابا برون‌زا می‌تواند فعالیت و بیان فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL)، را تنظیم کند. در گیاهان، تشکیل فلاونوئیدها عمدتاً توسط فنیل‌آلانین-آمونیالیاز (PAL)، سینامیک اسید ۴-هیدروکسیلاز (C4H) و کوآنزیم A لیگاز ۴-کومارات (CL۴) انجام می‌شود. این آنزیم‌ها فنیل‌آلانین را ابتدا به سینامیک اسیدتبدیل می‌کند سپس سینامیک اسید به به اسید p-کوماریک و در نهایت اسید p-کوماریک را به حالت فعال (۴-کوماریل-کوآ-p) تبدیل می‌کنند که این فرآیند مسیر عمومی فنیل پروپانوئید است و در ادامه طی مسیرهای فرعی مختلف بیوسنتز انواع ترکیبات اتفاق می‌افتد (Ma *et al*., 2021)، که سپس وارد متابولیسم فلاونوئیدها از جمله آنتوسیانین‌ها می‌شود (Zhao *et al*., 2021). علاوه بر این، در محصول لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) نیز گزارش شده است که گابا برون-زا می‌تواند با تاثیر بر کوآنزیم کومارات A لیگاز (CL۴) برای تجمع آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها محتوای اسیدهای آمینه و قندهای محلول را برای بهبود تنش خشکی افزایش دهد (Abd El-Gawad *et al*., 2021). تیمار گابا باعث افزایش گلیکوزیلاسیون و مالونیلاسیون ایزوفلاون‌ها می شود که ممکن است با افزایش سنتز پلی-فنول‌ها تحت تیمار گابا ارتباط داشته باشند (Yu *et al*., 2022). به طور کلی، می‌توان گفت که گابا به عنوان یک مولکول سیگنال برای افزایش محتوای فنیل آلانین درون زا و واسطه متابولیسم فنیل پروپانوئید، با افزایش بیان و فعالیت آنزیم‌های حیاتی درگیر در مسیر فنیل پروپانوئید و افزایش سطوح ایزوفلاون و آنتوسیانین عمل می‌کند. در پژوهشی یو و همکاران (Yu et al., 2022) گزارش کرده‌اند که کاربرد محلول پاشی گابا می‌تواند تجمع اسیدهای آمینه و پپتیدهای فعال زیستی، ایزوفلاون‌ها، آنتوسیانین‌ها، قندها، ویتامین C و اسیدهای آلی را بهبود بخشد. گابا برون‌زا می‌تواند متابولیسم گابا درون‌زا را برای افزایش فعالیت GABA-T (حامل گابا) و تحریک بیشتر اسید اگزگلوتاریک، که یک محصول میانی چرخه TCA است برای ورود به متابولیسم اسید آمینه و متابولیسم نیتروژن را بهبود بخشد و به تجمع اسیدهای آمینه، پپتیدهای فعال زیستی و اسیدهای آلی کمک کند. افزایش گابا درون‌زا همچنین مسئول افزایش بیشتر سطوح آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی (اسید اسکوربیک، فنل‌ها) و آنزیمی (مانند آسکوربات اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، مونودیدروآسکوربات ردوکتاز، گلوتاتیون ردوکتاز) است. در مطالعه‌ای دیگر گزارش شده است که همبستگی مثبت بین محتوای پلی‌فنول‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با گابا برون‌زا وجود دارد. و این به نقش گابا در سنتز و تجمع اسیدهای آمینه نظیر فنیل‌آلانین و نیز تاثیر بر بیان پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سنتز پلی‌فنول‌ها مربوط می‌شود (Wang *et al*., 2023). گابا می‌تواند فعالیت‌ها و بیان PAL، C4H و CL۴ را که در مسیر متابولیسم فنیل پروپان برای انباشتن فنل‌ها دخیل هستند، را تقویت کند، و در پی آن باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز شود (Wang *et al*., 2021).

متابولیسم ثانویه گیاه فرآیندی حیاتی است که از طریق آن گیاهان به محیط‌های تنش‌زا واکنش نشان می‌دهند. متابولیت‌های تولید شده نقش مهمی در افزایش انعطاف پذیری گیاه و سازگاری با تنش دارند. ثابت شده است که روی می‌تواند به طور موثر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه را تحریک کند (Jin Ling *et al*., 2015). چندین مطالعه تأثیرکمبود روی را بر متابولیسم فلاونوئیدها در برگ‌های چای (*Camellia sinensis*) بررسی کرده‌اند (Zhang *et al*.,

2017). مطالعات دیگر همبستگی مثبت و معناداری را بین محتوای روی در خاک و محتوای ترپن لاکتون در جینکو (*Ginkgo biloba*) نشان داده‌اند (Lin *et al*., 2019). در پژوهشی دیگر، مشاهده شده است که غلظت‌های پایین روی باعث افزایش سنتز فلاونوئیدها در *Dendrobium nobile* .L می‌شود، در حالی که غلظت‌های بالا آن را مهار می‌کند (Fan *et al*., 2021). این فرضیه وجود دارد که تحت تنش روی، گیاهان ممکن است با توزیع مجدد کربوهیدرات‌ها، مواد مغذی بیشتری را به سنتز ترپنوئیدها اختصاص دهند (Nekoukhou *et al*., 2022). روی نقش کلیدی در فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز، آنزیمی که در بیوسنتز ترکیبات فنولی دخیل است دارد و متعاقباً افزایش محتوای این ترکیبات را باعث می‌شود. همچنین روی می‌تواند با افزایش سرعت فتوسنتز، از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های کربنیک انیدراز و محتوای بیوسنتز کلروفیل در نهایت باعث افزایش متابولیسم پلی‌فنول‌ها شود (karimi, 2020). به طور کلی می‌توان گفت که نقش کلیدی گابا و نانواکسیدروی در بیوسنتز متابولیت‌های اولیه مثل متابولیت‌های اولیه به اثبات رسیده است. در این مطالعه نیز چه کاربرد تکی هرکدام از تیمارها چه کاربرد توام آنها باهم نسبت به شاهد نتایج بهتری را نشان داده است.

غلظت عناصر غذایی کم‌مصرف در برگ فلفل

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثرات اصلی و متقابل مصرف گابا و نانو اکسید روی بر غلظت عناصر کم‌مصرف در برگ فلفل در سطح احتمال ۰/۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای اسیدآمینه گابا و نانواکسیدروی بر غلظت عناصر کم‌مصرف برگ فلفل تند

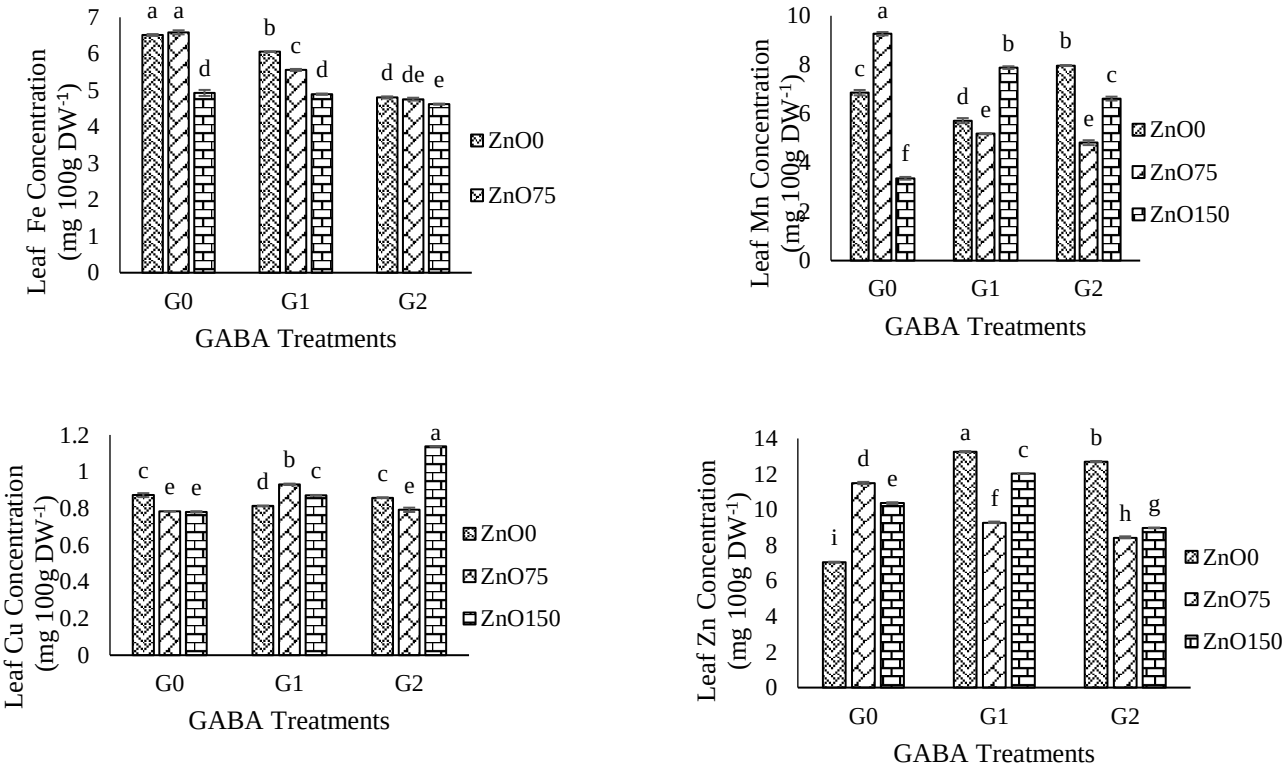
Table 3. Analysis of variance of the effect of GABA d and Nano-ZnO treatments on the concentration of micronutrients in hot pepper leaves

Source of variation	df	Mean Square			
		Fe	Zn	Cu	Mn
A (GABA)	2	3.763**	8.874**	0.031**	0.148*
B (Nano- ZnO)	2	2.483**	3.717**	0.024**	1.799**
A×B	4	0.604**	20.564**	0.048**	19.139**
Error	18	0.009	0.011	0.0001	0.063
CV (%)	-	1.78	1.00	2.11	3.92

*** and * Show significant difference at 1 and 5%, respectively.

شکل ۱۳ اثر متقابل مصرف اسید آمینه گابا و نانوذرات اکسید روی را بر غلظت عناصر آهن، روی، مس و منگنز در برگ فلفل نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده، بالاترین غلظت آهن (۶/۵۸۸ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) و منگنز (۹/۲۶۷ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) در برگ مربوط به شرایط عدم مصرف گابا و غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی بود. این در حالی است که بیشترین غلظت مس (۱/۱۳۸ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) و روی (۱۳/۲۵۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) به ترتیب در تیمار کاربرد ترکیبی مقدار ۲ میلی-مولار گابا و غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی و نیز تیمار حاوی غلظت ۱ میلی‌مولار گابا و عدم مصرف نانو اکسید روی مشاهده شد. اثر مصرف همزمان اسید آمینه گابا و نانوذرات اکسید روی بر عناصر غذایی در برگ فلفل نشان‌دهنده تعاملات پیچیده بین این عوامل است. در حالت عدم مصرف گابا و غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات، بالاترین غلظت آهن و منگنز مشاهده شده است، که ممکن است به دلیل عدم تداخل یا رقابت این عناصر با دیگر فاکتورها در خاک و گیاه باشد. از سوی دیگر، تیمارهای حاوی گابا با غلظت‌های متفاوت و نانوذرات نشان‌دهنده تاثیرات تنظیم‌کننده گابا بر جذب عناصر است. گابا ممکن است بر فرآیندهای انتقال و جذب عناصر معدنی تاثیر بگذارد، زیرا نقش آن در تنظیم تنش اکسیداتیو و بهبود وضعیت فیزیولوژیک گیاهان بخوبی اثبات شده است (Ramos-Ruiz *et al*., 2019). رشد گیاهی، تنش‌های محیطی و میزان رادیکال‌های آزاد (ROS) کنترل شده توسط گابا می‌توانند بر میزان عناصر معدنی در برگ تاثیر گذارد. از طرف دیگر، مصرف غلظت‌های بالای نانوذرات ممکن است باعث تغییر در ویژگی‌های خاک و محلول گیاهی شود، به‌طوری که جذب عناصر مختلفی نظیر مس و

روی تحت تاثیر قرار گیرد. برای مثال، نانوذرات روی و گابا می‌توانند بسته به غلظت و ترکیب تیمارها، به عنوان عوامل محرک یا محدودکننده برای جذب برخی از عناصر عمل کنند (Wohlmuth *et al*., 2022). در نتیجه، نتایج نشان‌دهنده یک توازن بین نقش‌های گابا و نانوذرات در تنظیم جذب عناصر معدنی است، جایی که غلظت‌های مختلف و نحوه مصرف هر کدام عوامل مهمی در این فرآیند هستند. بررسی‌های بیشتر برای درک کامل مکانیزم‌های زیستی این تعاملات لازم است، اما به طور کلی، این یافته‌ها بر اهمیت استفاده بهینه از ترکیبات بیوودینامیک و نانو در کشاورزی مؤثر تأکید دارند.



شکل ۱۳- تأثیر محلول‌پاشی گابا و نانواکسید روی بر میزان عناصر کم‌مصرف برگ فلفل تند

Figure 13. The effect of GABA and nanozinc oxide foliar spraying on the amount of micronutrients in hot pepper leaves

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه تاثیر دو تیمار گابا و نانواکسیدروی بر ویژگی-های رشدی و نیز فیتوشیمیایی میوه و برگ فلفل تند بررسی شد. براساس آنچه که در قسمت نتایج مشاهده شد، کاربرد توام این دو باهم تاثیر مثبتی هم بر فاکتورهای مورفولوژیکی و هم فیتوشیمیایی داشته است. درصورتیکه هدف از تیمار افزایش رشد و به دنبال آن مصرف خوراکی میوه‌ها می‌باشد، غلظت‌های متوسط دو تیمار تاثیر مثبتی دارد و توصیه می‌شود. اما اگر هدف از اعمال تیمار استحصال متابولیت‌های باارزش ثانویه موجود در فلفل باشد غلظت‌های بالای تیمارها در ترکیب باهم نتیجه بهتری خواهند داد. با توجه به اینکه اسید آمینه گابا و نانواکسیدروی ترکیباتی بی‌ضرر و مفید برای انسان است، کاربرد این ترکیبات به عنوان تیمار جهت تحریک رشد و عملکرد می‌تواند جالب توجه باشد.

تشکر و قدردانی

در نهایت از گروه باغبانی دانشگاه ارومیه، و تمامی اساتید و مسئولان آزمایشگاه این گروه برای ایجاد فرصت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نماییم.

Referrence

Abd El-Gawad, H. G., Mukherjee, S., Farag, R., Abd Elbar, O. H., Hikal, M., Abou El-Yazied, A., & Ibrahim, M. F. (2021). Exogenous γ-aminobutyric acid (GABA)-induced signaling events and field performance associated with mitigation of drought stress in Phaseolus vulgaris L. Plant Signaling & Behavior, 16(2), 1853384.

Aljuaid, B. S., & Ashour, H. (2022). Exogenous γ-aminobutyric acid (GABA) application mitigates salinity stress in maize plants. Life, 12(11), 1860.

Antonio, A. S., Wiedemann, L. S. M., & Junior, V. V. (2018). The genus Capsicum: A phytochemical review of bioactive secondary metabolites. RSC Advances, 8(45), 25767–25784.

Baenas, N., García-Viguera, C., & Moreno, D. A. (2014). Elicitation: A tool for enriching the bioactive composition of foods. Molecules, 19(9), 13541–13563.

Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., ... & Watzl, B. (2012). Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. European Journal of Nutrition, 51, 637–663.

Bouche, N., & Fromm, H. (2004). GABA in plants: Just a metabolite? Trends in Plant Science, 9(3), 110–115.

Çekiç, F. Ö. (2018). Exogenous GABA stimulates endogenous GABA and phenolic acid contents in tomato plants under salt stress. Celal Bayar University Journal of Science, 14, 61–64.

Chattha, M. U., Hassan, M. U., Khan, I., Chattha, M. B., Mahmood, A., Chattha, M. U., ... & Khan, S. (2017). Biofortification of wheat cultivars to combat zinc deficiency. Frontiers in Plant Science, 8, 281.

Dehnavi, M. M., & Sheshbahre, M. J. (2017). Soybean leaf physiological responses to drought stress improved via enhanced seed zinc and iron concentrations. Journal of Plant Process and Function, 5(18), 13–21.

Dimkpa, C. O., Campos, M. G., Fugice, J., Glass, K., Ozcan, A., Huang, Z., & Santra, S. (2022). Synthesis and characterization of novel dual-capped Zn–urea nanofertilizers and application in nutrient delivery in wheat. Environmental Science: Advances, 1(1), 47–58.

Eslami, M., Dehghanzadeh, H., Jafarzade, M., & Aminian, R. (2014). The effect of zinc on yield and yield components of sunflower (Helianthus annuus L.) under drought stress.

Fan, Y., Jiang, T., Chun, Z., Wang, G., Yang, K., Tan, X., & Luo, A. (2021). Zinc affects the physiology and medicinal components of Dendrobium nobile Lindl. Plant Physiology and Biochemistry, 162, 656–666.

Hassan, M. U., Aamer, M., Chattha, M. U., Haiying, T., Shahzad, B., Barbanti, L., ... & Guoqin, H. (2020). The critical role of zinc in plants facing the drought stress. Agriculture, 10(9), 396.

Hassan, M. U., Chattha, M. U., Ullah, A., Khan, I., Qadeer, A., Aamer, M., & Khan, T. A. (2019). Agronomic biofortification to improve productivity and grain Zn concentration of bread wheat.

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.

Hera, M. H. R., Hossain, M., & Paul, A. K. (2018). Effect of foliar zinc spray on growth and yield of heat tolerant wheat under water stress. Journal of Biological and Environmental Engineering, 1, 10–16.

Hernández-Pérez, T., Gómez-García, M. D. R., Valverde, M. E., & Paredes-López, O. (2020). Capsicum annuum (hot pepper): An ancient Latin-American crop with outstanding bioactive compounds and nutraceutical potential. A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 19(6), 2972–2993.

Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water culture method for growing plants without soil (Circular No. 347). California Agricultural Experiment Station.

Humbal, A., & Pathak, B. (2023). Influence of exogenous elicitors on the production of secondary metabolite in plants: A review ("VSI: Secondary Metabolites"). Plant Stress, 10, 100166.

Issa-Zacharia, A., Majaliwa, N. K., Nyamete, F. A., & Chove, L. M. (2024). Diversity of underutilised vegetables in Africa and their potential in the reduction of micronutrient deficiency: A review. World, 8(1), 1–13.

Jin, L., Gao, M. J., Duan, X. H., & Guo, X. R. (2015). Zn stress changchun spend different parts of Zn accumulation by exogenous ethephon regulation] .Article in Chinese.

Karimi, R. (2020). The effect of early season nutrition of calcium and zinc on yield, sugar content and enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity of grape. Journal of Plant Biological Sciences, 12(1), 1–22.

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

Li, Z., Peng, Y., & Huang, B. (2018). Alteration of transcripts of stress-protective genes and transcriptional factors by γ-aminobutyric acid (GABA) associated with improved heat and drought tolerance in creeping bentgrass (Agrostis stolonifera). International Journal of Molecular Sciences, 19(6), 1623.

Ma, Y., Ma, X., Gao, X., Wu, W., & Zhou, B. (2021). Light induced regulation pathway of anthocyanin biosynthesis in plants. International Journal of Molecular Sciences, 22(20), 11116.

Ma, Y., Wang, P., Che, Z., Gu, Z., & Yang, R. (2018). GABA enhances physio-biochemical metabolism and antioxidant capacity of germinated hulless barley under NaCl stress. Journal of Plant Physiology, 231, 192–201.

Michaeli, S., & Fromm, H. (2015). Closing the loop on the GABA shunt in plants: Are GABA metabolism and signaling entwined? Frontiers in Plant Science, 6, 419.

Mohanan, P. V., Sudhakaran, S., Athira, S. S., Varma, H. K., & Mohanan, P. V. (2020). Determination of the bioavailability of zinc oxide nanoparticles using ICP-AES and associated toxicity.

Nekoukhou, M., Fallah, S., Abbasi-Surki, A., Pokhrel, L. R., & Rostamnejadi, A. (2022). Improved efficacy of foliar application of zinc oxide nanoparticles on zinc biofortification, primary productivity and secondary metabolite production in dragonhead. Journal of Cleaner Production, 379, 134803.

Patel, K., & Patel, D. K. (2024). Biological importance, pharmacological activities, and nutraceutical potential of capsanthin: A review of Capsicum plant capsaicinoids. Current Drug Research Reviews, 16(1), 18–31.

Podlešáková, K., Ugena, L., Spíchal, L., Doležal, K., & De Diego, N. (2019). Phytohormones and polyamines regulate plant stress responses by altering GABA pathway. New Biotechnology, 48, 53–65.

Ramos-Ruiz, R., Martinez, F., & Knauf-Beiter, G. (2019). The effects of GABA in plants. Cogent Food & Agriculture, 5(1), 1670553.

Ramos-Ruiz, R., Poirot, E., & Flores-Mosquera, M. (2018). GABA, a non-protein amino acid ubiquitous in food matrices. Cogent Food & Agriculture, 4(1), 1534323.

Shelp, B. J., Bown, A. W., & Zarei, A. (2017). 4-Aminobutyrate (GABA): A metabolite and signal with practical significance. Botany, 95(11), 1015–1032.

Singh, P. K., Singh, J., Medhi, T., & Kumar, A. (2022). Phytochemical screening, quantification, FT-IR analysis, and in silico characterization of potential bio-active compounds identified in HR-LC/MS analysis of the polyherbal formulation from Northeast India. ACS Omega, 7(37), 33067–33078.

Sita, K., & Kumar, V. (2020). Role of gamma amino butyric acid (GABA) against abiotic stress tolerance in legumes: A review. Plant Physiology Reports, 25(4), 654–663.

Sultana, S., Naser, H. Á., Shil, N. C., Akhter, S., & Begum, R. A. (2016). Effect of foliar application of zinc on yield of wheat grown by avoiding irrigation at different growth stages. Bangladesh Journal of Agricultural Research, 41(2), 323–334.

Wang, L., Li, X., Gao, F., Liu, Y., Lang, S., Wang, C., & Zhang, D. (2023). Effect of ultrasound combined with exogenous GABA treatment on polyphenolic metabolites and antioxidant activity of mung bean during germination. Ultrasonics Sonochemistry, 94, 106311.

Wang, M., Zhu, Y., Wang, P., Gu, Z., & Yang, R. (2021). Effect of γ-aminobutyric acid on phenolics metabolism in barley seedlings under low NaCl treatment. Antioxidants, 10(9), 1421.

Wang, J., Sun, S., Fang, W., Fu, X., Cao, F., & Liu, S. (2025). Gamma-aminobutyric acid: A novel biomolecule to improve plant resistance and fruit quality. Plants, 14(14), 2162.

Weisany, W., Mohammadi, M., Tahir, N. A. R., Aslanian, N., & Omer, D. A. (2021). Changes in growth and nutrient status of maize (Zea mays L.) in response to two zinc sources under drought stress. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 21, 3367–3377.

Wohlmuth, J., Tekielska, D., Čechová, J., & Baránek, M. (2022). Interaction of the nanoparticles and plants in selective growth stages—Usual effects and resulting impact on usage perspectives. Plants, 11(18), 2405.

Wu, X., Jia, Q., Ji, S., Gong, B., Li, J., Lü, G., & Gao, H. (2020). Gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates salt damage in tomato by modulating Na^+ uptake, the GAD gene, amino acid synthesis and reactive oxygen species metabolism. BMC Plant Biology, 20, 1–21.

Yu, G., Chen, F., Wang, Y., Chen, Q., Liu, H., Tian, J., & Zhang, Y. (2022). Exogenous γ-aminobutyric acid strengthens phenylpropanoid and nitrogen metabolism to enhance the contents of flavonoids, amino acids, and the derivatives in edamame. Food Chemistry: X, 16, 100511.

Zahra, G., Marjan, M., Taher, B., & Ranjbar, M. E. (2021). Foliar application of ascorbic acid and gamma aminobutyric acid can improve important properties of deficit irrigated cucumber plants (Cucumis sativus cv. Us). Gesunde Pflanzen, 73(1), 77–84.

Zhang, T., Sun, H., Lv, Z., Cui, L., Mao, H., & Kopittke, P. M. (2017). Using synchrotron-based approaches to examine the foliar application of $ZnSO_4$ and ZnO nanoparticles for field-grown winter wheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 66(11), 2572–2579.

Zhang, Y., Wang, Y., Ding, Z., Wang, H., Song, L., Jia, S., & Ma, D. (2017). Zinc stress affects ionome and metabolome in tea plants. Plant Physiology and Biochemistry, 111, 318–328.

Zhao, Y., Xie, C., Wang, P., Gu, Z., & Yang, R. (2021). GABA regulates phenolics accumulation in soybean sprouts under NaCl stress. Antioxidants, 10(6), 990.

Zhu, J., Li, J., Shen, Y., Liu, S., Zeng, N., Zhan, X., & Xing, B. (2020). Mechanism of zinc oxide nanoparticle entry into wheat seedling leaves. Environmental Science: Nano, 7(12), 3901–3913.

Zhu, J., Wang, J., Zhan, X., Li, A., White, J. C., Gardea-Torresdey, J. L., & Xing, B. (2021). Role of charge and size in the translocation and distribution of zinc oxide particles in wheat cells. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 9(34), 11556–11564.

Žugić, A., Đorđević, S., Arsić, I., Marković, G., Živković, J., Jovanović, S., & Tadić, V. (2014). Antioxidant activity and phenolic compounds in 10 selected herbs from Vrujci Spa, Serbia. Industrial Crops and Products, 52, 519–527.