



مقاله علمی-پژوهشی

اثر پیش تیمار پلی اتیلن گلیکول و ملاتونین بر مقاومت به سرما در نشاء خربزه خاتونی (*Cucumis melo* L.)

حسین نستری نصرآبادی^{۱*} - سید فرهاد صابرعلی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۳

چکیده

سرما از جمله تنش‌های محیطی است که باعث بروز آسیب‌های فیزیولوژیکی به سلول‌های گیاهان حساس می‌شود. برای این منظور اثر پیش تیمار خشکی و کاربرد ملاتونین در جهت تحمل به سرما در نشاهای خربزه مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح تنش خشکی (شاهد، ۱۰ و ۲۰ درصد پلی اتیلن گلیکول)، دو سطح ملاتونین (شاهد و ۲۰۰ میکرو مولار) و دو سطح دمایی (شاهد و تنش سرما) بودند. نتایج نشان داد که با اعمال پیش تیمار خشکی گیاهان از محتوای پرولین بالاتری برخوردار بوده و همچنین با حفظ رطوبت نسبی، تنش دمایی پایین را بهتر تحمل نمودند. بالاترین مقدار کلروفیل در تیمار بدون تنش خشکی، کاربرد ملاتونین و عدم تنش سرما به دست آمد. کاربرد ملاتونین بطور معنی‌داری باعث افزایش ۱/۹۸ درصد رطوبت نسبی و ۲۶/۶۰ درصد محتوای قند نسبت به شاهد گردید. مشخص گردید کاربرد ملاتونین باعث افزایش معنی‌دار ترکیبات فنلی تحت شرایط تنش شد و میزان نشت یونی بطور معنی‌داری کاهش یافت. بطور کلی نتایج نشان داد که پیش تیمار خشکی و کاربرد ملاتونین بطور موثری می‌تواند از خسارت ناشی از سرمای پایین در مراحل اولیه رشد خربزه جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی: پرولین، پلی اتیلن گلیکول، رطوبت نسبی، ملاتونین، نشت یونی

مقدمه

تنش خشکی با تاثیر بر تنظیم اسمزی، تغییر در تولید هورمون‌ها و هدایت روزنه‌ای، کاهش رشد شاخساره و افزایش رشد ریشه‌ها می‌تواند سبب مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی بعدی شود (۱۰). قنبری و سیاری (۱۰) گزارش کردند که پیش تیمار خشکی سبب حفظ رشد نشاهای گوجه فرنگی در شرایط تنش سرمایی و حفظ محتوای آب نسبی و کلروفیل شد. همچنین بیان شده است که تیمار تنش خشکی در نشاء خیار سبب بهبود و حفظ ساختار غشاء در شرایط تنش سرما گردید (۷). ساتو و همکاران (۳۴) گزارش کردند که تنش خشکی در نشاهای کلم موجب بهبود نگهداری آنها در شرایط تاریکی و تنش دمایی پایین شد. گزارش شده است که تیمار تنش خشکی در مرحله رشد رویشی موجب بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی و فتوسنتز گیاهان در هنگام تنش سرما در مراحل بعدی رشد می‌شود (۲۵). کایل و همکاران (۶) گزارش کردند که پیش تیمار خشکی باعث افزایش مقاومت به شوری و افزایش عملکرد در گوجه فرنگی گردید.

به خوبی شناخته شده است که گیاهان می‌توانند در برابر زیان‌های اکسیداتیو بوسیله تنظیم سیستم‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در جهت توازن ترکیباتی مانند رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید از خودشان محافظت کنند (۳۸). امروزه ثابت شده است که متابولیت‌ها و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی

خربزه با نام علمی *Cucumis melo* L. متعلق به خانواده کدویان است که منشأ اولیه آن از مناطق گرم آفریقا بوده و ایران به عنوان منشأ ثانویه این محصول با ارزش شناخته می‌شود. شهرستان تربت جام بزرگترین تولید کننده خربزه در ایران است که هر سال بطور متوسط ۱۸۰۰۰ هکتار از اراضی این منطقه به کشت این محصول اختصاص می‌یابد. از آنجائی که یکی از اهداف استفاده از مالچ پلاستیکی جلوگیری از صدمه سرمای دیررس بهاره است، کشاورزان به منظور زودرسی و تولید محصول نوبرانه از مالچ پلاستیک استفاده می‌کنند، که عدم جمع‌آوری مناسب مالچ‌های پلاستیکی پس از برداشت محصول باعث ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی فراوانی در منطقه می‌شود (۲۹ و ۳۰).

با ایجاد تغییر در شرایط محیطی در خزانه تولید نشاء، می‌توان درجات مختلفی از مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاه القاء نمود.

۱ و ۲- استادیاران گروه علوم و مهندسی باغبانی، مجتمع آموزش عالی کشاورزی و دامپرووری تربت جام
* - نویسنده مسئول:
(Email: ho_nastari@yahoo.com)

گردید و جهت جلوگیری از تنش ناگهانی، تیمار تنش خشکی در طی ۳ روز و هر روز با افزایش یک سوم غلظت مورد نظر اعمال شد (۱۰). پس از تنش خشکی، بازیابی به مدت سه روز انجام گردید و در طی این دوران ملاتونین بر اساس غلظت مورد نیاز به محلول غذایی اضافه شد (۳۷). سپس گیاهچه‌ها تحت تیمار تنش سرمایی در دو سطح شاهد (T0: بدون تنش) و شرایط سرما (T1) قرار گرفتند، گیاهان شاهد در شرایط گلخانه نگهداری شدند. به منظور تامین دمای پایین گیاهان به اتاقک رشد با دمای شب ۶ و روز ۱۲ درجه سانتی‌گراد (۳۸) به ترتیب به مدت زمان ۱۰ و ۱۴ ساعت، به مدت یک هفته انتقال یافتند. بعد از اعمال تیمار سرمایی گیاهان به مدت ۷۲ ساعت در شرایط گلخانه قرار گرفته و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند. صفات مورد مطالعه شامل پرولین، میزان قندهای محلول، کلروفیل، میزان رطوبت نسبی برگ، مقدار فنل کل و میزان نشت یونی بود و نمونه‌های مورد مطالعه از برگ‌های حقیقی سوم تهیه شدند. میزان پرولین به روش بیتس و همکاران (۴)، قندهای محلول بر اساس روش هج و هوفریتز (۱۴)، مقدار کلروفیل a، b و کل بر مبنای روش رقیمی و همکاران (۳۲)، محتوای رطوبت نسبی به روش کرامر (۲۳)، مقدار فنل کل بر اساس روش مک دونالد و همکاران (۲۸) و میزان نشت یونی به روش بلوم و ابرکن (۵) اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده توسط نرم‌افزار SAS انجام گردید و مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت و نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

میزان پرولین

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۱) که اثرات متقابل سه گانه تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد بر مقدار پرولین معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین نتایج نشان داد (جدول ۲) با افزایش تنش خشکی روند افزایشی در میزان تولید پرولین وجود دارد. بطوریکه بیشترین مقدار پرولین (۰/۸ میکرو مول بر گرم وزن تر) در بالاترین سطح پیش تیمار خشکی با عدم کاربرد ملاتونین و بدون تنش سرما (D2M0T0) ثبت شد و پس از آن روند کاهشی در تولید پرولین مشاهده شد. به نظر می‌رسد گیاهان پیش تیمار شده با بالاترین سطح تنش خشکی (D2) از محتوای پرولین بالاتری برخوردار بوده و شرایط سرما را بهتر تحمل می‌کنند و باعث کاهش روند افزایشی میزان تولید پرولین می‌گردد. در تمامی ترکیبات، کاربرد ملاتونین باعث افزایش میزان تولید پرولین گردید. کمترین مقدار تولید پرولین (۰/۴۳ میکرو مول بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد (DOM0T0) به دست آمد. در چنین شرایطی یکی از مهمترین استراتژی‌های معمول مقاومت

زیادی وجود دارد، که نقش مهمی در تنظیم پاسخ به تنش سرما دارند. ملاتونین (N-acetyl-5-methoxytryptamine) یک ماده محافظتی است که در باکتری‌ها تا پستانداران وجود دارد (۳۸). ملاتونین یک ترکیب ایندولی است که بطور طبیعی در گیاهان سنتز می‌شود و در تنظیم رشد ریشه، شاخه، جوانه‌زنی بذر و تاخیر در پیری برگ نقش دارد (۲). علاوه نشان داده شده است که ملاتونین در ارتباط با استرس‌های محیطی مانند خشکی، دماهای بالا و پایین، فلزات سنگین و تنش شوری نیز دخالت دارد. گزارش شده است که ملاتونین با تنظیم کردن ثبات دیواره سلولی و سیالیت آن و همچنین فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مقاومت گیاهان را به سرما افزایش می‌دهد (۸). در سالهای اخیر استفاده از ملاتونین در جهت بهبود مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی مورد توجه قرار گرفته است. باجو و همکاران (۳) در مطالعه اثر ملاتونین بر روی گیاه آرابیدوپسیس بیان نمودند که ملاتونین باعث تنظیم و بیان ژن‌های مقاومت به سرما می‌گردد. گزارش شده است که کاربرد ملاتونین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در خربزه گردید (۳۸). یانگ و همکاران (۳۷) گزارش کردند که کاربرد ملاتونین بصورت اسپری و یا به همراه آبیاری باعث کاهش خسارت به سیستم فتوسنتزی در گوجه فرنگی می‌شود.

هدف از انجام این آزمایش استقرار بهتر گیاهچه‌های خربزه تحت شرایط نامساعد محیطی از جمله سرما و کاهش استفاده از مالچ‌های پلاستیکی و آلودگی‌های زیست محیطی بود.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی اثر پیش تیمار تنش خشکی و ملاتونین بر مقاومت به تنش سرما در گیاهچه‌های خربزه، آزمایشی بصورت فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در مجتمع آموزش عالی کشاورزی و دامپروری تربت جام طرح ریزی و اجرا گردید. در این آزمایش از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ به منظور ایجاد تنش خشکی در سه سطح با پتانسیل اسمزی صفر (D0)، ۰/۱۸ (D1) و ۰/۵۸ (D2) مگاپاسکال (صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد وزن بر حجم پلی اتیلن گلیکول) و ملاتونین در دو سطح صفر (M0) و ۲۰۰ (M1) میکرو مولار استفاده شد. ابتدا بذرهای جهت ضدعفونی به مدت سه دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد قرار داده شدند و بعد از آن دوبار با آب مقطر شستشو گردیدند. سپس در گلدان‌های سایز ۱۴ (قطر دهانه ۱۴ و ارتفاع ۱۱ سانتی‌متر) حاوی پرلایت، ورمی کولایت و کوکوپیت (به نسبت مساوی) کشت شدند. گلدان‌ها در گلخانه با دمای روز و شب به ترتیب 25 ± 2 و 18 ± 2 درجه سانتیگراد قرار گرفتند و پس از سبز شدن بصورت روز در میان با محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. پس از ظهور ۴ برگ حقیقی تنش خشکی با اضافه کردن مقادیر مورد نیاز پلی اتیلن گلیکول به محلول آبیاری به مدت یک هفته انجام

(۳۵). کاربرد ملاتونین در دانه‌های خربزه به بالا نگهداشتن سطح پرولین کمک می‌کند و این عمل باعث حفظ آب درون سلول‌ها و حفظ ساختار سلولی می‌شود (۳۸).

محتوای رطوبت نسبی

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص گردید که اثرات متقابل دوگانه خشکی و سرما در سطح احتمال یک درصد و اثرات ساده ملاتونین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند. مقایسه میانگین اثرات ساده ملاتونین (شکل ۴-D) نشان داد که کاربرد ملاتونین بطور معنی داری باعث افزایش میزان ۱/۹۸ درصد محتوای رطوبت نسبی برگ نسبت به عدم کاربرد ملاتونین گردید. اثرات متقابل پیش تیمار خشکی و دما (شکل ۱-B) نشان داد که با افزایش پیش تیمار خشکی روند کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ وجود دارد، ولی بر اساس نتایج مشخص گردید که بطور قابل توجهی میزان رطوبت نسبی برگ در ترکیب بالاترین سطح تنش خشکی (D2) تحت تنش سرما (T1) حفظ می‌شود، بطوری که اختلاف معنی‌داری بین بالاترین سطح تنش خشکی در شرایط سرما (D2T1) و عدم تنش سرما (D2T0) و همچنین سطح متوسط تنش خشکی در شرایط سرما (D1T1) وجود نداشت. بالاترین میزان رطوبت نسبی برگ (۸۷/۸۵ درصد) در شرایط عدم پیش تیمار خشکی و بدون تنش سرمایی (D0T0) به دست آمد و کمترین مقدار آن (۷۳/۳۷ درصد) در ترکیب بالاترین سطح پیش تیمار خشکی و عدم تنش سرما (D2T0) ثبت شد.

به تنش در گیاهان، تولید بیش از حد انواع مختلف محلول‌های آلی سازگار می‌باشد. محلول‌های سازگار با وزن مولکولی کم و ترکیباتی با قابلیت حل شدن بالا هستند که معمولاً حتی در غلظت‌های بالا هم سمی نیستند. عموماً آنها از گیاهان در برابر تنش‌ها از طرق مختلف مثل شرکت در تنظیم اسمزی، سم زدایی اکسیژن فعال شده، استحکام غشاء سلولی و حفظ ساختار طبیعی آنزیم‌ها و پروتئین‌ها حفاظت می‌کنند (۹). تنظیم اسمزی یک مکانیزم برای حفظ روابط آبی تحت تنش اسمزی می‌باشد. تحت شرایط کمبود آب، تجمع مواد محلول، پتانسیل سلول را کاهش می‌دهد که باعث جذب آب به داخل سلول و کمک به حفظ فشار تورگور می‌شود. بوسیله تنظیم اسمزی، فعالیت‌های سیتوپلاسمی تقریباً در یک فضای نرمال اتفاق می‌افتد و به گیاهان برای انجام دادن بهتر دوره‌های رشدی، فتوسنتز و توزیع آسمیلات‌ها کمک می‌کند (۲۶). پرولین یکی از مهمترین محلول‌ها است که به صورت آزاد در پاسخ گسترده‌ای از گیاهان عالی، جلبک‌ها، حیوانات و باکتری‌ها برای کاهش پتانسیل آب تجمع می‌یابد. پرولین در برگ‌ها تحت شرایط پتانسیل پایین آب سنتز می‌شود. نقش‌های فیزیولوژیکی زیادی به پرولین ارتباط داده‌اند مانند: تثبیت ماکرو مولکول‌ها و ذخیره کربن و نیتروژن برای استفاده‌ی بعد از رفع کمبود آب (۳۹).

ژانگ و همکاران (۳۸) گزارش کردند که کاربرد ملاتونین باعث افزایش میزان تولید پرولین در دانه‌های خربزه تحت تنش سرما می‌شود که با نتایج این تحقیق یکسان است. گزارشات متعدد دیگری مبنی بر افزایش میزان پرولین با کاربرد ملاتونین نیز وجود دارد (۳۳) و

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر خشکی، ملاتونین و دما بر برخی صفات نشاء خربزه خاتونی

Table 1- ANOVA for the effect of drought, melatonin and temperature on some traits of melon transplant

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی DF	پرولین Proline	رطوبت نسبی RWC	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Total Chl	قندهای محلول Soluble sugars	فنل کل Total phenol	نشت یونی Electrolyte leakage
خشکی Drought (D)	2	0.2331**	243.75**	2.846**	1.748**	9.052**	0.733 **	83.19**	388.35**
ملاتونین Melatonin (M)	1	0.0110**	19.92*	1.432**	0.734**	4.216**	0.763**	0.92ns	131.64**
دما Temperature (T)	1	0.0109**	130.11**	3.276**	0.757**	7.182**	0.264**	5.19**	30.65**
D×M	2	0.0029**	0.01ns	0.111**	0.086*	0.382**	0.034ns	0.06ns	2.76ns
D×T	2	0.0125**	101.62**	0.941**	0.241**	2.109**	0.009ns	2.78**	42.35**
M×T	1	0.0079**	2.51ns	0.144*	0.006ns	0.092ns	0.013ns	2.85*	1.31ns
D×M×T	2	0.0011*	2.23ns	0.086*	0.027ns	0.207*	0.003ns	0.22ns	5.31ns
خطا Error	24	0.0003	4.01	0.02	0.02	0.05	0.03	0.36	1.69

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns عدم معنی‌داری.

*and ** significant at 5% and 1% of probability level and ns non-significant. (RWC: Relative water content).

جدول ۲- اثرات متقابل پیش تیمار خشکی × ملاتونین × دما بر صفات مورد مطالعه نشاء خربزه

Table 2- Interaction effects of drought × melatonin × temperature on studied traits of melon transplant

خشکی Drought	ملاتونین Melatonin	دما Temperature	پرولین Proline ($\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)	کلروفیل a Chl a (mg g^{-1})	کلروفیل کل Total Chl (mg g^{-1})
D0	M0	T0	0.43 g	5.18 b	8.21 b
		T1	0.49 e	4.27 ef	6.76 de
	M1	T2	0.46 f	6.10 a	9.65 a
		T3	0.60 d	4.57 d	7.42 c
D1	M0	T0	0.66 c	4.48 de	6.93 de
		T1	0.69 c	4.01 g	6.21 fg
	M1	T0	0.68 c	4.82 c	7.48 c
		T1	0.73 b	4.38 de	7.01 d
D2	M0	T0	0.80 a	3.98 g	6.23 fg
		T1	0.73 b	3.93 g	6.02 g
	M1	T0	0.77 a	4.29 e	6.60 ef
		T1	0.78 a	4.08 fg	6.33 fg

میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند و میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون از نظر آماری اختلافی ندارند.

The mean comparisons were performed using Duncan's multiple range test at $p \leq 0.05$ significant level. Means followed by the same letter(s) in each column have not significantly difference. D0: 0, D1: %10 and D2: % 20 of PEG. M0: 0 and M1: 200 μmol of melatonin. T0: control and T1: cold stress.

مقایسه میانگین نتایج نشان داد که پیش تیمار خشکی بطور معنی‌داری باعث کاهش مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل (جدول ۲) گردید. بر اساس نتایج مشخص شد، بالاترین سطح پیش تیمار تنش خشکی (D2) و کاربرد ملاتونین (M1) سبب حفظ کلروفیل a در شرایط تنش سرما می‌شود، بطوریکه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین بالاترین سطح تنش خشکی و کاربرد ملاتونین در شرایط سرما (D2M1T1) با سطح متوسط تنش خشکی و عدم کاربرد ملاتونین در شرایط سرما (D1M0T1) وجود نداشت. بالاترین میزان کلروفیل a (۶/۱۰ میلی‌گرم بر گرم) در شرایط عدم پیش تیمار خشکی، کاربرد ملاتونین و عدم تنش سرمایی (D0M1T0) به دست آمد که نسبت به شاهد ۱۷/۷۶ درصد افزایش نشان داد و کمترین مقدار آن (۳/۹۳ میلی‌گرم بر گرم) در بالاترین سطح تنش خشکی و عدم کاربرد ملاتونین در شرایط تنش سرما (D2M0T1) ثبت شد، که نسبت به شاهد ۲۴/۱۳ درصد کاهش داشت. روند مشابهی در خصوص مقدار کلروفیل کل به دست آمد (جدول ۲) بطوری‌که بیشترین (۹/۶۵ میلی‌گرم بر گرم) و کمترین (۶/۰۲ میلی‌گرم بر گرم) مقدار کلروفیل کل به ترتیب در ترکیب تیمارهای عدم پیش تیمار تنش خشکی، کاربرد ملاتونین با عدم تنش سرما (D0M1T0) و بالاترین سطح پیش تیمار تنش خشکی، عدم کاربرد ملاتونین و شرایط سرما (D2M0T1) ثبت گردید.

در بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل دوگانه خشکی و کاربرد ملاتونین بر مقدار کلروفیل b (شکل ۲) مشخص گردید که با پیش تیمار تنش خشکی روند کاهش مقدار کلروفیل b نیز وجود دارد و در تمامی ترکیبات کاربرد ملاتونین باعث افزایش مقدار کلروفیل b گردید که این افزایش فقط در بالاترین سطح تنش خشکی معنی‌دار

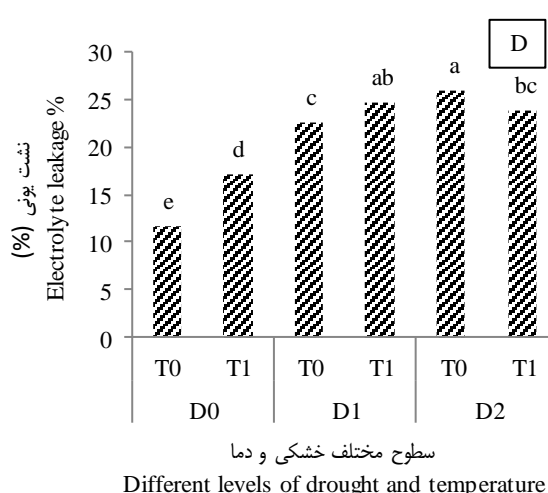
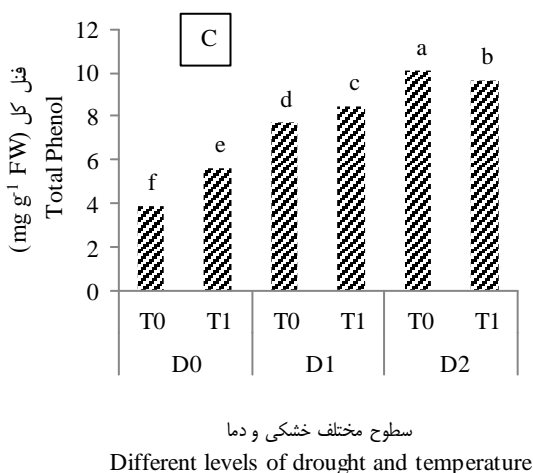
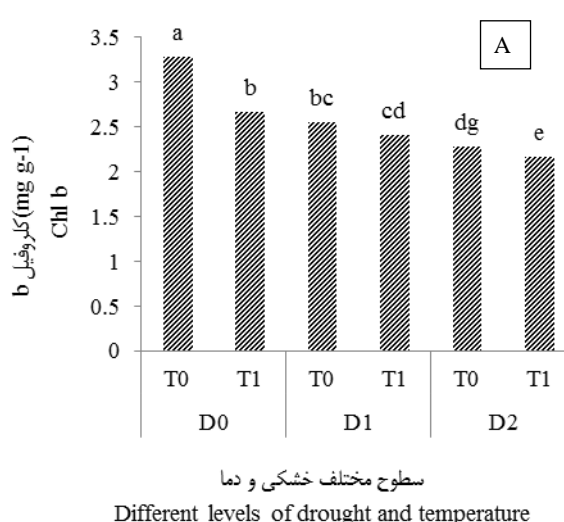
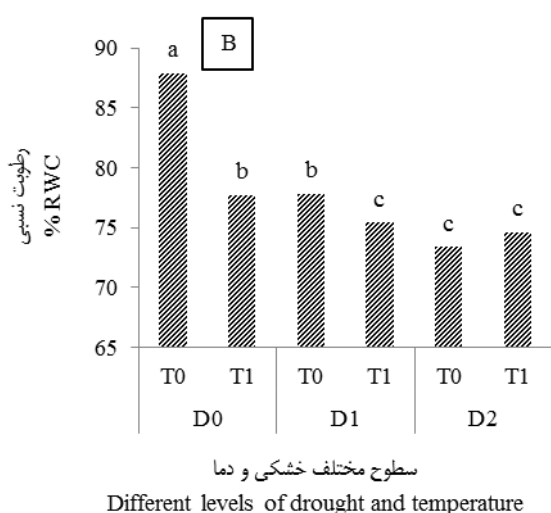
کبیری و همکاران (۲۰) در بررسی کاربرد ملاتونین در القا مقاومت به تنش خشکی در بادرنجبویه گزارش کردند که کاربرد ملاتونین بطور معنی‌داری باعث افزایش محتوای رطوبت نسبی برگ می‌شود که با نتایج به دست آمده مطابقت دارد. گزارشات متعددی مبنی بر کاهش میزان رطوبت نسبی برگ تحت تنش خشکی وجود دارد (۱۵)، قنبری و سیاری (۱۰) در مطالعه‌ای بیان نمودند که پیش تیمار تنش خشکی نشاهای گوجه فرنگی سبب حفظ میزان رطوبت نسبی نشاء گوجه فرنگی در شرایط تنش سرما می‌گردد که با نتایج به دست آمده در این تحقیق مشابه است. میزان رطوبت نسبی آب گیاه شاخص مناسبی در جهت بررسی مقاومت به تنش‌های محیطی می‌باشد. کاهش میزان رطوبت نسبی برگ باعث کاهش هدایت روزنه‌ای و میزان فتوسنتز می‌شود (۱۳). در هنگام تنش سرما به خاطر کاهش میزان تعرق و بسته شدن روزنه‌ها هدایت هیدرولیکی ریشه کاهش می‌یابد که باعث تنش آب نیز می‌گردد (۱۹). در این تحقیق مشخص شد که با پیش تیمار تنش خشکی میزان رطوبت نسبی برگ هنگام تنش سرما حفظ می‌گردد که احتمالاً پیش تیمار تنش خشکی با تولید متابولیت‌های ثانویه باعث کاهش خسارت‌های ناشی از سرمازدگی می‌شود.

محتوای کلروفیل

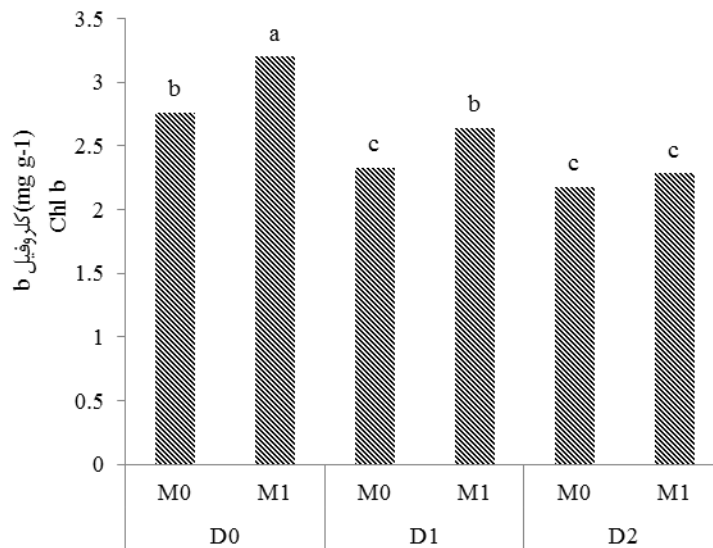
تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثرات متقابل سه گانه بر مقدار کلروفیل a و کل در سطح احتمال ۵ درصد اثرات معنی‌داری داشت و اثرات متقابل دو گانه تنش خشکی با ملاتونین و تنش خشکی با دما به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد بر مقدار کلروفیل b معنی‌دار شدند.

سطوح مختلف پیش تیمار تنش خشکی بطور معنی داری باعث حفظ کلروفیل کل در شرایط تنش سرما می گردد. همچنین حلمی و همکاران (۱۶) بیان کردند که پیش تیمار دمایی سبب افزایش مقدار کلروفیل در نشاء خیار تحت تنش سرما شده است. ژانگ و همکاران (۳۸) نیز گزارش کردند که کاربرد ملاتونین در شرایط تنش سرما در دانهال های خربزه باعث افزایش معنی دار کلروفیل 'a' و 'b' کل می شود، همچنین گزارش شده است که ملاتونین باعث افزایش معنی دار کلروفیل کل در بادرنجوبیه (۲۰) تحت تنش خشکی گردیده است که با نتایج این تحقیق یکسان است.

نیود. بیشترین مقدار کلروفیل b (۳/۲۰ میلی گرم بر گرم) در شرایط عدم تنش خشکی و کاربرد ملاتونین (D0M1) و کمترین آن (۲/۱۷ میلی گرم بر گرم) در ترکیب بالاترین سطح پیش تیمار خشکی و عدم کاربرد ملاتونین (D2M0) ثبت شد. روند مشابهی در بررسی اثرات متقابل دوگانه خشکی و سرما (شکل ۱-A) به دست آمد، بطوری که بالاترین مقدار کلروفیل b (۳/۲۹ میلی گرم بر گرم) در شرایط عدم پیش تیمار خشکی و سرما (D0T0) و کمترین آن (۲/۱۷ میلی گرم بر گرم) در بالاترین سطح تنش خشکی و شرایط سرما (D2T1) ثبت گردید که نسبت به شاهد ۳۲/۰۴ درصد کاهش نشان داد. قنبری و سیاری (۱۰) در مطالعه اثر پیش تیمار تنش خشکی بر بهبود تحمل به سرما در نشاهای گوجه فرنگی گزارش کرده اند که



شکل ۱- اثرات متقابل خشکی × دما بر محتوای کلروفیل b (A)، میزان رطوبت نسبی (B)، مقدار فنل کل (C) و نشت یونی (D) در نشاء خربزه
 Figure 1- Interaction effects of drought × temperature on chl b (A), % RWC (B), total phenol (C) and electrolyte leakage (D).
 D0: 0, D1: %10 and D3: %20 of PEG. T0: control and T1: cold stress in melon transplant. (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۲- اثر متقابل خشکی × ملاتونین بر مقدار کلروفیل b در نشاء خربزه

Figure 2- Interaction effect of drought × melatonin on chl b. D0: 0, D1: %10 and D3: %20 of PEG. M0: 0 and M1: 200 μmol of melatonin in melon transplant. (DMRT, $p \leq 0.05$)

بطور معنی داری باعث افزایش ۲۶/۶۰ درصد میزان قندهای محلول نسبت به عدم کاربرد آن گردید (شکل ۴-A). آکینیک و لوزل (۱) نیز در گیاه خیار افزایش قندهای محلول را در تیمار خشکی در مقایسه با شاهد گزارش کردند و در رقم متحمل به تنش در آزمایش آنها بیشترین تجمع قند مشاهده شد. کرپسی و گالیبا (۲۲) همبستگی بالایی را بین تجمع قند و مقاومت به شوری و خشکی گزارش کردند و اشاره کردند که این ویژگی می تواند به عنوان یک معیار تحمل به تنش باشد.

وظیفه اصلی کربوهیدراتها محافظت اسمزی، تنظیم فشار اسمزی، ذخیره کربن و از بین بردن رادیکالهای آزاد است (۳۱). در دوره تنش، گیاه به منظور ادامه تورژسانس سلولهای خود، مولکولهای درشت نشاسته را به ساکارز و سپس به فروکتوز و گلوکز تبدیل می کند که موجب منفی تر شدن پتانسیل آب در سلولها و تنظیم اسمزی می شود (۱۱). کشاورز و همکاران (۲۱) بیان کردند که تجمع ساکاروز و دیگر قندهای ساده که در اثر سازگاری با سرما اتفاق می افتد در پایداری غشاء نقش مهمی دارد و باعث حفاظت غشاء در مقابل انجماد می شود. گزارشهای متعددی درباره افزایش قندهای محلول در گیاهان هنگام تنش سرما وجود دارد (۱۸ و ۳۶). کبیری و همکاران (۲۰) گزارش کردند که کاربرد ملاتونین باعث افزایش قندهای محلول در گیاهچه های بادرشوبیه تحت تنش اسمزی می شود که با نتایج به دست آمده در این تحقیق یکسان است. قندهای محلول جزء اسمولیت هایی هستند که در پاسخ به تنش کم آبی برای تنظیم اسمزی در گیاهان تجمع می یابند و نقش آنها در حفظ ساختار ماکرو مولکولهای سلول و از جمله ثابت بخشیدن به ساختار DNA گزارش شده است، به طوری که برخی دانشمندان مقدار قندهای

بیان شده است که کاربرد ملاتونین بصورت اسپری و یا همراه آبیاری باعث افزایش کارایی سیستم فتوسنتزی در گوجه فرنگی می شود (۳۷). دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط نامساعد محیطی و تنشها از جمله شاخصهای فیزیولوژیک مقاومت به تنش است. گزارشات متعددی مبنی بر کاهش محتوای کلروفیل تحت تنشهای محیطی وجود دارد (۱۲ و ۱۵). تنش سرما باعث اختلال در تولید کلروفیل می شود و به کلروپلاست آسیب وارد می کند از طرفی تولید کلروفیل در برگ یکی از فرآیندهای حساس به دما است و از فاکتورهای موثر در اندازه گیری میزان مقاومت یا حساسیت یک گیاه به سرما است (۲۴). کاهش کلروفیل در شرایط تنش مربوط به افزایش تولید گونه های واکنشگر اکسیژن در سلولها می باشد که باعث تجزیه آن می شود. احتمالاً پیش تیمار تنش خشکی با افزایش پرولین و ترکیبات فنلی دیگر در سلولهای گیاهی موجب کاهش اثرات تنش سرما و کاهش میزان کلروفیل می گردد (۱۰).

محتوای قند

بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که فقط اثرات ساده تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد بر روی میزان قندهای محلول اثرات معنی داری داشتند (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات ساده پیش تیمار خشکی (شکل ۴-C) نشان داد که تحت تنش خشکی میزان قندهای محلول بطور معنی داری افزایش می یابد و بیشترین میزان قند (۱/۴۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) در بالاترین سطح پیش تیمار تنش خشکی ثبت شد. همچنین میزان قندهای محلول در گیاهان تحت تنش سرما بطور معنی داری افزایش یافت (شکل ۴-B) بطوریکه نسبت به شاهد ۱۴/۷۸ درصد افزایش نشان داد. کاربرد ملاتونین نیز

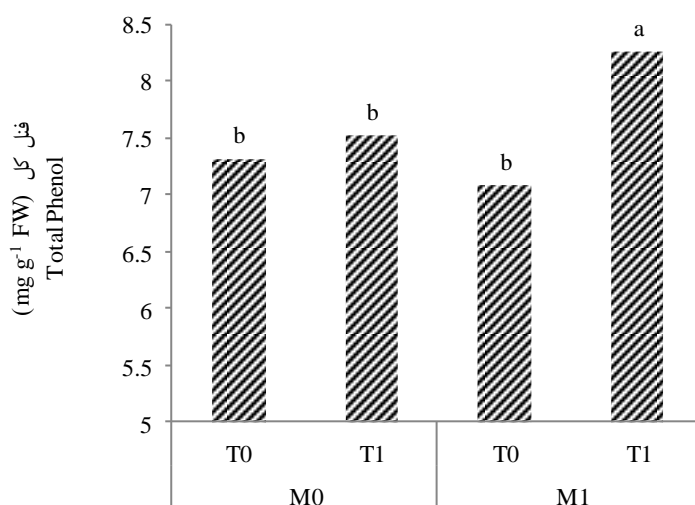
محلول را به عنوان شاخص خوبی برای بیان مقاومت به تنش محیطی ذکر نموده‌اند (۱۸ و ۳۶).

نشت یونی

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص گردید که اثرات ساده ملاتونین و اثرات متقابل دو گانه پیش تیمار خشکی و دما در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند. مقایسه میانگین اثرات ساده ملاتونین (شکل E-۶) نشان داد که کاربرد ملاتونین بطور معنی‌داری باعث کاهش ۱۴/۳۵ درصد نسبت به شاهد گردید. نتایج نشان داد که کاربرد ملاتونین می‌تواند با افزایش مقدار پرولین، ترکیبات فنلی و افزایش رطوبت نسبی مانع افزایش نشت یونی گردد که نتایج این تحقیق با نتایج کبیری و همکاران (۲۰) یکسان است. در بررسی اثرات متقابل پیش تیمار خشکی و دما (شکل D-۱) کمترین مقدار نشت یونی (۱۱/۸۳ درصد) در شاهد ثبت شد و بیشترین مقدار آن (۲۶/۰۲ درصد) در ترکیب بالاترین سطح پیش تیمار خشکی و عدم تنش سرما (D2T0) مشاهده شد. نتایج نشان داد که گیاهان پیش تیمار شده با بالاترین مقدار پلی اتیلن گلیکول (۲۰ درصد) از محتوای بالاتری از ترکیبات فنلی و پرولین برخوردار هستند و شرایط تنش سرما را بهتر تحمل می‌کنند بطوری که میزان نشت یونی بطور معنی‌داری در گیاهان تیمار شده با بالاترین سطح پلی اتیلن گلیکول و تنش سرما (D2T1) کاهش یافت. به نظر می‌رسد افزایش میزان ترکیبات فنلی و پرولین مانع افزایش تولید انواع گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) تحت تنش سرما شده و در نتیجه پراکسیداسیون چربی‌های غشایی کاهش یافته و مانع تخریب اسیدهای چرب غشاء می‌گردد، بنابراین میزان نشت مواد درون یاخته‌ای کاهش می‌یابد (۱۰ و ۲۷)

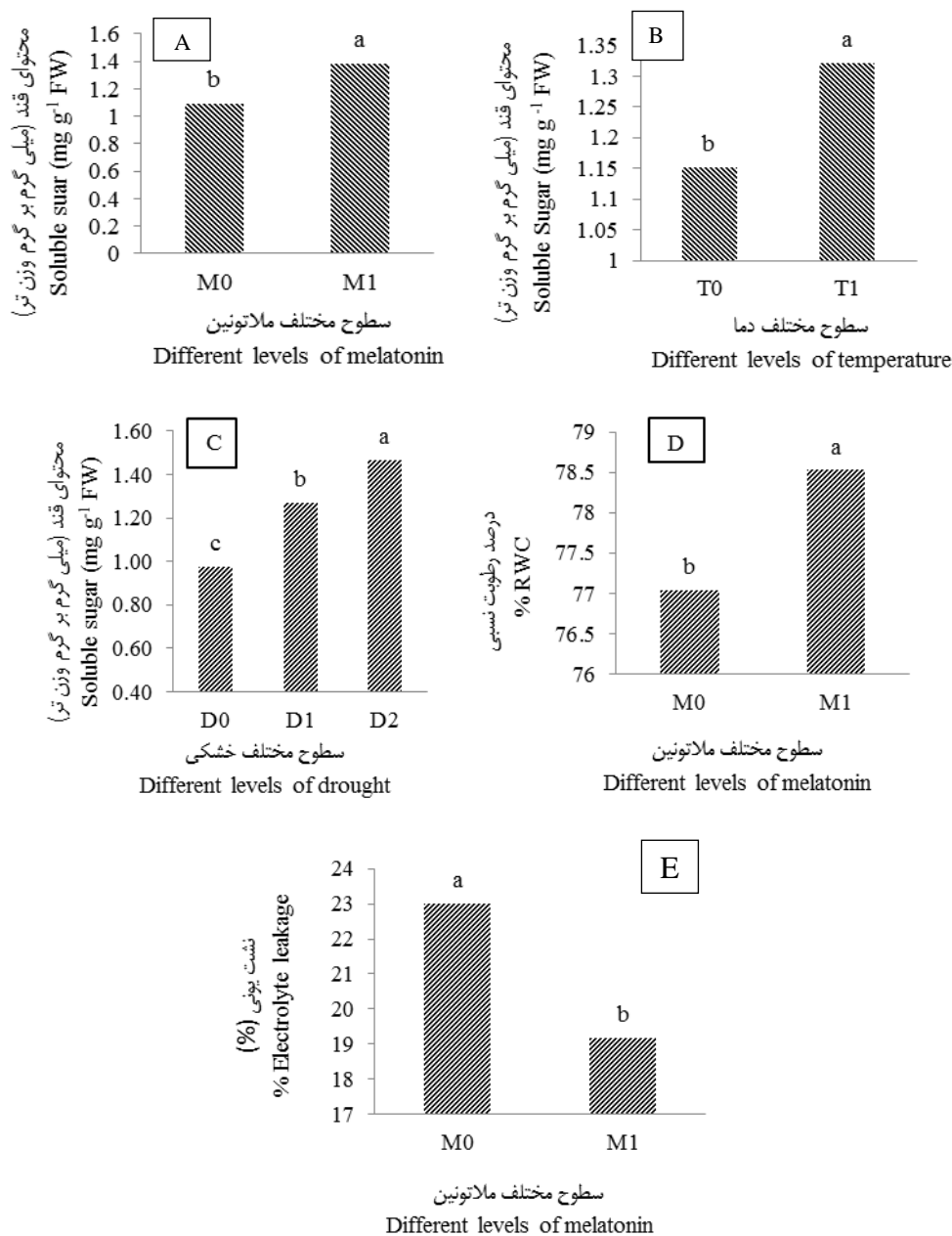
میزان فنل کل

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثرات متقابل دو گانه خشکی و سرما در سطح احتمال یک درصد و اثرات متقابل ملاتونین و دما در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند. مقایسه میانگین نتایج (شکل C-۱) نشان داد، کمترین مقدار فنل در ترکیب شاهد (D0T0) به دست آمد و با افزایش میزان تنش خشکی مقدار فنل کل افزایش یافت، بطوری که بیشترین مقدار فنل در ترکیب بالاترین سطح پیش تیمار تنش خشکی و عدم تنش سرما (D2T0) ثبت شد و پس از آن روند کاهش مشاهده شد ولی اختلاف معنی‌داری بین شرایط سرما و شاهد وجود نداشت. به نظر می‌رسد گیاهان پیش تیمار شده با ۲۰ درصد پلی اتیلن گلیکول از محتوای فنل بالاتری برخوردار بوده و شرایط سرما را بهتر تحمل می‌کنند. بطور کلی افزایش محتوای ترکیبات فنلی تحت تنش‌های محیطی یک اتفاق عمومی بوده و در بسیاری از تحقیقات گزارش شده است و نتایج به دست آمده با مطالعات مشابه یکسان است (۱۰ و ۱۷). مقایسه میانگین اثرات متقابل ملاتونین و دما (شکل ۳) نشان داد که در شرایط تنش دمای پایین، کاربرد ملاتونین باعث افزایش معنی‌دار مقدار فنل گردید و بین سایر ترکیبات اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کاربرد ملاتونین بعنوان یک تعدیل کننده اثرات تنش‌های محیطی در بالا نگهداشتن میزان فنل در گیاهان تحت تنش کمک می‌کند که این عمل باعث حفظ آب درون سلول‌ها و حفظ ساختار سلولی می‌گردد (۳۸).



شکل ۳- اثر متقابل ملاتونین × دما بر میزان فنل کل در نشاء خربزه

Figure 3- Interaction effect of melatonin × temperature on total phenol. M0: 0 and M1: 200 μmol of melatonin. T0: control and T1: cold stress in melon transplant. (DMRT, p≤0.05)



شکل ۴- اثرات ساده تیمارهای مختلف بر محتوای قند، میزان رطوبت نسبی و نشت یونی نشاء خربزه

Figure4- Simple effect of different treatments on sugar content, RWC and electrolyte leakage. M0: 0 and M1: 200 μ mol of melatonin. T0: control and T1: cold stress. D0: 0, D1: %10 and D3: %20 of PEG of melon transplant (DMRT, $p \leq 0.05$).

جام می‌باشد که بدینوسیله از معاونت پژوهشی مجتمع تقدیر و تشکر می‌گردد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از نتایج طرح تحقیقاتی اجرا شده از محل اعتبارات پژوهشی مجتمع آموزش عالی کشاورزی و دامپروری تربت

منابع

- 1- Akinic S., and Losel D.M. 2009. The soluble sugars determination in cucurbitaceae species under water stress and recovery periods. *Advances in Environmental Biology* 3(2): 175-183.

- 2- Arnao M.B., and Hernández-Ruiz J. 2014. Melatonin: Plant growthregulator and/or biostimulator during stress? Trends in Plant Science 19: 789–797.
- 3- Bajwa V.S., Shukla M.R., Sherif S.M., Murch S.J., and Saxena P.K. 2014. Role of melatonin in alleviating cold stress in Arabidopsis thaliana. Journal of Pineal Research 56: 238–245.
- 4- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1993. Rapid determination of free proline for water stress study. Plant and Soil 39(1): 205-207.
- 5- Blum A. 1996. Crop response to drought and the interpration adaptation. Plant Growth Regulation 20: 135-145.
- 6- Cayuela E., Munoz-Mayor A., Vicente-Agullo F., Moyano E., Garcia-Abellan J. O., Estan M.T., and Bolarin M. C. 2007. Drought pretreatment increases the salinity resistance of tomato plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 170: 479-484.
- 7- Dong X., Bi H., Wu G., and Ai X. 2013. Drought-induced chilling tolerance in cucumber involves membrane stabilisation improved by antioxidant system. International Journal of Plant Production 7(1): 67-79.
- 8- Fan J., Hu Z., Xie Y., Chan Z., Chen K., Amombo E., and Fu J. 2015. Alleviation of cold damage to photosystem ii and metabolisms by melatonin in bermudagrass. Frontiers in Plant Science 6: 925.
- 9- Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., and Basra S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy 29: 185-212.
- 10- Ghanbari F., and Sayyari M. 2016. Chilling tolerance improving of tomato seedling by drought stress pretreatment. Iranian Journal of Horticultural Science 48(3): 669-679.
- 11- Ghorbani Javid M., Moradi F., Akbari G., and Allahdadi I. 2006. The role of some metabolites on the osmotic adjustment mechanism in annual cutleaf medic [*Medicago laciniata* (L.) Mill] under drought stress. Iranian Journal of Crop Sciences 8(2): 90-105. (In Persian)
- 12- Hamada A.M. 1996. Effect of NaCl, water stress or both on gas exchange and growth of wheat. Biologia Plantarum, 38: 405- 412.
- 13- HassanPour J.M., Kafi M., and Mirhadi M.J. 2008. Effect of drought stress on yield and some physiological characters in barley. Iranian Journal of Agricultural Science 39: 165-177. (In Persian)
- 14- Hedge J.E., and Hofreiter B.T. 1962. In: R. L. Whistler & B. Miller (Ed.), Carbohydrate Chemistry. Pp.17-22. Academic Press, New York.
- 15- Heidari N., Pouryousef M., and Tavakoli A. 2014. Effects of drought stress on photosynthesis, its parameters and relative water content of anise (*Pimpinella anisum* L.). Journal of Plant Research 27(5): 829-839.
- 16- Helmy Y.I., Singer S.M. and El-Abd S.O. 1999. Reduction chilling injury by short term cold acclimation of cucumber seedlings under protected cultivation. Acta Horticulturae 491: 177-184.
- 17- Hura K., Hura T., Rapacz M., and Pazek A. 2016. Effects of low-temperature hardening on the biochemical response of winter oilseed rape seedlings inoculated with the spores of *Leptosphaeria maculans*. Biologia 70(8): 1011-1018.
- 18- Jalilian M., Dehdari M., Amiri Fahliani R., and Movahedi Dehnavi M. 2017. Effect of Cold Tolerance in Different Sugar Beet Cultivars at Seedling Stage. Environmental Stresses in Crop Sciences, 10(3): 475-490. (In Persisn)
- 19- Joshi S.C., Chandra S. and Palni L.M.S. 2007. Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. Photosynthetica 45: 594-600.
- 20- Kabiri R., Hatami A., Oloomi H., Naghizadeh M., Nasibi F., and Tahmasebi Z. 2018. Study the Effect of Melatonin on Early Growth and Some Physiological and Germination Characteristics of Seed and Moldavian Balm (*Dracocephalum moldavica*) Seedling under Osmotic Stress. Iranian Journal of Seed Science and Technology 7(1): 25-40.
- 21- Keshavarz, H., Modares Sanavi S.A.M., Zarin Kamar F., and Dolatabadian A. 2011. Effect of foliar application of salicylic acid on some biochemical traits of two rapeseed cultivars under cold stress. Iranian Journal of Crop Sciences 42(4): 723-734. (In Persian)
- 22- Kerepesi I., and Galiba G. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheatseedlings. Crop Science 40: 482-487.
- 23- Kramer P.J. 1983. Plant water relations. Academic Press, New York.
- 24- Krasensky J., and Jonak C. 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. Journal of Experimental Botany 63: 1593-1608.
- 25- Li X., Topbjerg H. B., Jiang D., and Liu F. 2015. Drought priming at vegetative stage improves the antioxidant capacity and photosynthesis performance of wheat exposed to a short-term low temperature stress at jointing stage. Plant and Soil 393(1-2): 307-318.
- 26- Ludlow M.M., and Muchow R.C. 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. Advances in Agronomy 43: 107–153.
- 27- Maali-Amiri R., and Goldenkova-Pavlova I.V. 2007. Lipiid fatty acid composition of potato plants transformed with delta 12-desaturase gene from cyano-bacterium. Russian Journal of Plant Physiology 54(5): 678-685.
- 28- McDonald S., Prenzler P.D., Autolovich M., and Robards K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of

- olive extracts. Food Chemistry 73: 73-84.
- 29- Nastari Nasrabadi H., Nemati S.H., Sobhani A., and Arooei H. 2012. Effect of mulch and interval irrigation on yield and fruit quality of tow melon cultivar of Khorasan Razavi Province. Journal of Horticultural Science 23(3): 327-333.
- 30- Nastari Nasrabadi H., Nemati S.H., Sobhani A., and Sharifi M. 2012. Study on morphologic variation of different Iranian melon cultivars (*Cucumis melo* L.). African Journal of Agricultural Research 7(18): 2764-2769.
- 31- Parida A. and Das A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.
- 32- Raghmi M., Estaji A., Bagheri V., and Ariakia E. 2016. Effect of salinity and salicylic acid on some morphological traits of solanum melongena under hydroponic system. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 27: 77-87. (In Persian)
- 33- Sarropoulou V.N., Therios I.N., and Dimass K.N. 2012. Melatonin promotes adventitious root regeneration in invitro shoot tip explants of the commercial sweet cherry rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus* L.), Gisela 6 (*P.cerasus*3 *P. canescens*) and MxM 60 (*P. avium*3 *P.mahaleb*). Journal of Pineal Research 52: 38-46.
- 34- Sato F., Yoshioka H., Fujiwara T., Higashio H., Uragami A., and Tokuda S. 2004. Physiological responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temperature storage in darkness. Scientia Horticulturae 101: 349-357.
- 35- Szafranska K., Glinska S., and Janas K.M. 2012. Changes in the nature of phenolic deposits after re-warming as a result of melatonin pre-sowing treatment of *Vigna radiata* seeds. Journal of Pineal Research 69: 34-40.
- 36- Wang L.J., Jiang W.B., Hung B.J. 2004. Promoting of 5-aminolevulinic acid on photosynthesis of melon (*Cucumis melo*) seedling under low light and chilling stress conditions. Physiologia Plantarum 121: 258-264.
- 37- Yang XL., Xu H., Li D., Gao X., Li TL., and Wang R. 2018. Effect of melatonin priming on photosynthetic capacity of tomato leaves under low-temperature stress. Photosynthetica 56(3): 884-892.
- 38- Zhang Y.P., Xu S., Yang S.J., and Chen Y.Y. 2017. Melatonin alleviates cold-induced oxidative damage by regulation of ascorbate-glutathione and proline metabolism in melon seedlings (*Cucumis melo* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 92(3): 313-324.
- 39- Zhu J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual Review of Plant Biology 53: 247-273.



Effect of Polyethylene Glycol Pretreatment and Melatonin on Cold Resistance of 'Khatoni' Melon (*Cucumis melo* L.) Transplant

H. Nastari Nasrabadi^{1*}- S.F. Saberali²

Received: 30-11-2019

Accepted: 12-02-2020

Introduction: Melon (*Cucumis melo* L.) is one of the most important vegetables in Cucurbitaceae family and one of the most important economic crops in the Torbat-e Jam city (Longitude: 60°48', latitude: 35°31', altitude: 928 m). Growth and yield of agricultural crops are affected by biotic and abiotic environmental stresses. Cold stress can be one of the most important environmental factors reducing crops yield. Cold acclimation in plant is a complex process involving many morphological, physiological and biochemical changes, including a significant reduction in tissue hydration during cold hardening. Melatonin (MEL, N-acetyl-5-methoxytryptamine) is a conserved substance, which has been discovered in all living organisms, from bacteria to mammals. MEL regulates the growth of root, shoot, and explant, activates seed germination and rhizogenesis, and delays leaf senescence. In addition, the most frequently mentioned functions of MEL are related to various abiotic stresses such as drought, radiation, low/high temperature, heavy metals, and salinity stresses.

Materials and Methods: In order to investigate the effect of PEG priming and melatonin on cold stress resistance of melon seedlings, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in Torbat-e-Jam University. In this experiment polyethylene glycol 6000 was used to produce drought stress at three levels (0, 0.18 and 0.58 MPa) and melatonin was used at two levels (0 and 200 μmol). When melon seedlings were at 4 leaf stage, the amount of polyethylene glycol was added to the irrigation solution for a week and to prevent drought stress, drought stress was increased for 3 days and increased one third of the required concentration daily. Recovery was performed for three days after drought stress and during this period melatonin was added to the irrigation solution at the required concentration. Seedlings were then exposed to cold stress (T0: non-stress and T1: cold conditions). Control plants were kept in greenhouse conditions.

Results and Discussion: Comparison of the mean results showed that there was an increasing trend in proline production by increasing drought stress. The highest amount of proline ($0.80 \mu\text{mol g}^{-1}$ FW) was recorded at the highest level of drought pretreatment with no melatonin and without cold stress (D2M0T0), and then a decreasing trend in proline production was observed. The results showed that melatonin significantly increased leaf relative water content compared to the control. Interaction effects of drought pretreatment and temperature showed that there was a trend of decrease in relative water content by increasing drought pretreatment. Ghanbari and Sayyari (8) reported that drought pretreatment stress maintains relative water content of tomato seedlings under cold stress conditions. Drought pretreatment significantly reduced the amount of chlorophyll a and total chlorophyll. The results showed that the highest levels of drought pretreatment stress (D2) and melatonin (M1) maintained chlorophyll a under cold stress conditions. Results showed that the amount of chlorophyll b was decreased by drought pretreatment stress, but it increased by melatonin application in all compounds. Based on the results, it was found that only simple effects of treatments at 1% of probability level had significant effects on soluble sugars content. Comparison of the mean simple effects of drought pretreatment showed that under drought stress the amount of soluble sugars increased significantly and the highest sugar content was recorded at the highest drought stress level. The amount of soluble sugars in plants under cold stress also increased significantly. Melatonin application also significantly increased the amount of soluble sugars. Kabiri *et al.* (19) reported that the use of melatonin increased soluble sugars in Moldavian balm seedlings under osmotic stress which is similar to this study results. It was found that melatonin significantly increased phenolic compounds under stress conditions and significantly decreased electrolyte leakage.

Keywords: Electrolyte leakage, Melatonin, Polyethylene glycol, Proline, Relative humidity

1 and 2- Assistant Professors, Department of Horticulture Science and Engineering, Torbat-e Jam University
(*- Corresponding Author Email: ho_nastari@yahoo.com)