گیاه و زیست فناوری ایران
Iranian Journal of Plant & Biotechnology (IJPB)

مقاله پژوهشی

تاثیر الیسیتورهای قارچی بر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان پرولین نخل خرما رقم استعمران (*Phoenix dactylifera* L., cv. Stameran) در شرایط تنش شوری

بیتا صادقی[1]، وحید عبدوسی (نویسنده مسئول)[2*] وحید زرین‌نیا[3] و نادر حسن‌زاده[4]

۱- دانشجوی دکترا، گروه باغبانی و زراعی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، b_sadeghi2014@yahoo.com

۲*- دانشیار، گروه علوم باغی و زراعی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، Abdossi@yahoo.com

۳- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، zarrinnia@gmail.com

٤- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، hasanzadehr@yahoo.com

تاریخ دریافت: آبان ۱٤۰۲ تاریخ پذیرش: بهمن ۱٤۰۲

The effect of fungal elicitors on the concentration of photosynthetic pigments and the amount of proline of Stameran date palm (*Phoenix dactylifera* L., cv. Stameran) under salinity stress conditions

Bita Sadeghi[1], Vahid Abdossi (Corresponding author)[2]*, Vahid Zarrinnia[3] and Nader Hasanzade[4]

1- Ph.D student, Department of Horticultural Science and Agronomy, Faculty of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, b_sadeghi2014@yahoo.com

2*- Associated Professor, Department of Horticulture and Agronomy, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran, abdossi@yahoo.com

3- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran Iran, zarrinnia@gmail.com

4- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran Iran, hasanzadehr@yahoo.com

Received: November 2023 Accepted: February 2024

Abstract

Water and soil salinity are one of the serious and developing problems in the world, and a large area of the country's land is also facing this problem. The use of fungal microorganisms in reducing environmental stress such as salinity has become a global solution. In order to evaluate the effect of fungal elicitors on the concentrations of photosynthetic pigments and the amount of proline under salinity stress conditions of Otamaran date palm seedlings, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design with 3 levels of salinity and 3 levels of biological elicitors in the horticultural science laboratory. became. The effect of elicitors at 3 levels of fungal consortium (bioactive) (BFC), fungal elicitor with 1000 PPM concentration (EL1), fungal elicitor with 2000 PPM concentration (EL2), the second factor of salinity at three levels (zero, 150 and 300 mM) was evaluated. The results showed that at 300 mM salinity, EL1 mushroom elicitor was able to increase proline compared to other salinity levels. EL2 mushroom elicitor showed more chlorophyll a and total at 300 mM salinity level, and at 150 mM salinity level, the live fungus consortium caused more chlorophyll a. The use of elicitor can be effective in reducing the effects of salinity stress in dates, but the level of stress can determine the effect of each elicitor.

Key words: Chlorophyll, Fungus, Proline, Salinity, Stress

Iranian Journal of Plant & Biotechnology
Winter 2024, Vol 18, No 4, Pp 12-21

چکیده

شوری آب و خاک یکی از مشکلات جدی و رو به توسعه در سطح جهان است، که سطح وسیعی از اراضی کشور نیز با این مشکل مواجه هستند. کاربرد میکروارگانیسم‌های قارچی در کاهش تنش‌های محیطی مانند شوری، به یک راهکار جهانی تبدیل شده است. به منظور بررسی ارزیابی تأثیر الیسیتورهای قارچی بر میزان غلظت‌های رنگیزه‌های فتوسنتزی و پرولین در شرایط تنش شوری گیاهچه‌های خرما رقم استعمران، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ سطح شوری و ۳ سطح الیسیتور زیستی در آزمایشگاه علوم باغبانی انجام شد. تاثیر الیسیتورها در ۳ سطح کنسرسیوم قارچی (زیست فعال، BFC)، الیسیتور قارچی با غلظت میلی‌گرم در لیتر۱۰۰۰(EL1)، الیسیتور قارچی با غلظت میلی‌گرم در لیتر۲۰۰۰(EL2) عامل دوم شوری در سه سطح (صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج نشان داد که در شوری ۳۰۰ میلی‌مولار، الیسیتور قارچ EL1 توانست پرولین را نسبت به سایر سطوح شوری افزایش دهد. الیسیتور قارچ EL2 در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار کلروفیل a و کل بیشتری را نشان داد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کنسرسیوم قارچ زنده، کلروفیل a بیشتری را موجب شد. استفاده از الیسیتور در کاهش اثرات تنش شوری در خرما می‌تواند موثر باشد، اما سطح تنش می‌تواند تعیین کننده میزان اثر هر الیسیتور باشد.

کلمات کلیدی: پرولین، تنش، شوری، قارچ، کلروفیل

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران

سال ۱٤۰۲، دوره ۱۸، شماره ٤، صص ۲۱-۱۲

مقدمه و کلیات

ایران یکی از بزرگ‌ترین تولید کنندگان خرما در جهان می‌باشد که از نظر تولید بعد از کشور مصر وعربستان سعودی و از نظر سطح زیر کشت بارور بعد از عراق در رتبه دوم جهان قراردارد(FAOSTAT, 2021). تنش شوری یکی از عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان در کشور ما محسوب می‌شود. حدود ۵۰ درصد اراضی کشور به نحوی با مشکل شوری مواجه می باشند (پور قیومی و همکاران، ۱۳۹۹). در شرایط شوری و خاک‌های شور مکش اسمزی زیاد باعث کاهش جذب آب توسط ریشه های گیاه میشود که این امر منجر به ایجاد تنش اسمزی، عدم تعادل و ایجاد سمیت یونی و نیز کمبود عناصر غذایی در گیاه می شود (Kabiria and Anamul Hogue, 2019) . تنش شوری همچنین باعث تجمع یونهای سدیم و کلر در بافت گیاهان در خاکهای با غلظت زیاد سدیم و کلر می شود که به دنبال آن تعادل تغذیه ای از بین میرود وجذب بیش از حد آنها سبب ایجاد اختلال فیزیولوژیک شدید می شود. در پی وقوع تنش شوری در گیاه فرآیندهای اصلی متابولیکی و برخی ساختارهای سلولی مانند غشاهای زیستی آسیب خواهند دید. در خاکهای شور غلظت زیاد یون سدیم با کاهش جذب یون پتاسیم به کاهش رشد و عملکرد وحتی خشک شدن گیاه منجر می شود و بین جذب سدیم و پتاسیم رقابت شدیدی وجود دارد (Hazzouri *et al*., 2020). ترکیبات میکروبی خاکزی نقش قابل توجهی را در رشد و توسعه گیاهان میزبان در شرایط تنش های زنده و غیر زنده ایفا می‌کنند. قارچ‌های خاکزی ممکن است در فرآیند رشد و توسعه گیاه مؤثر باشند (EL Kinany *et al*., 2022). بیشتر آنها از تولید اتیلن جلوگیری می‌کنند که بیشتر در مواجهه شدن با شرایط تنش‌های محیطی تولید می‌شود. قارچ-های خاکزی همچنین تولید متابولیت‌های ثانویه، فراهم کردن مستقیم مواد غذایی یعنی نیتروژن و فسفات، تجزیه مواد زائد ناشی از متابولیسم گیاه و تبدیل آن به مواد قابل استفاده توسط گیاه از قبیل یون‌های آمونیوم و همچنین نقل و انتقال دو جهت کربن را نشان دادند (Indeiragandhi *et al*., 2008). در تحقیقی که توسط El Kinany *et al* (2022) در کاربرد کودهای ارگانیک و عوامل میکروبی در افزایش رشد درختان نخل خرما انجام گردید این محققین دریافتند که تیمارهای کمپوست، مایکوریزا (MycENA16) و *Pantoea agglomerans* در حضور هم برای تحریک رشد درختان نخل خرما در شرایط شوری موثر هستند. قارچ‌های ریزوسفری مقیم خاک را PGPF می‌نامند. این قارچ‌ها از منابع زیستی شناخته شده با خصوصیات مثبت بی‌شمار هستند و نقش کلیدی را در کشاورزی ایفا می‌کنند. کاربرد PGPFها در شرایط تنش یک راه زیست محیطی است. این قارچ‌ها سبب افزایش عملکرد، افزایش رشد شاخه و ریشه، افزایش محتوای کلروفیل وغیره در شرایط تنش می‌شوند. قارچ های موثر در شرایط تنش شامل (*Aspergillus, Fusarium, Talaromuces, Trichoderma, Phyophtora, Pencillium, Rhizoctonia, Gliocladium, Phoma*) می‌باشند. هدف از تحقیق حاضر دستیابی به الیسیتور موثردر افزایش مقاومت و کارایی گیاه خرما به به تنش شوری بود.

فرآیند پژوهش

جداسازی عوامل قارچی: برای جمع آوری جدایه-های قارچی؛ ابتدا نمونه برداری خاک در شهرستان شادگان، از ۵ منطقه مختلف ریزوسفری صورت گرفت. به منظور جداسازی جدایه‌های قارچی مقاوم به شوری، جدایه‌های قارچی جمع آوری شده از خاک در محیط داکس آگار حاوی غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰ ،۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر سدیم کلراید که با روش ترکیب با محیط کشت، آماده شده اند کشت گردید. جدایه‌هایی که بیشترین میزان رشد و کمترین درصد بازدارندگی را در بالاترین غلظت‌های شوری را داشتند به عنوان جدایه‌های نماینده جهت بررسی در مطالعات درون زیوه استفاده گردید.

تهیه کنسرسیوم قارچی زنده(زیست فعال): به منظور آماده سازی زاد مایه تلقیح ۵۰۰ گرم جو نیم کوب داخل ارلن ۵۰۰ میلی لیتر ریخته و بوسیله اتوکلاو استریل شد. پس از استریل جو نیم کوب، ۵ تکه از کلونی قارچ مورد نظر درون ارلن وارد شده و به مدت ۷ روز درون انکوباتور قرار داده شد. در تمام این مدت ارلن هر ٢٤ ساعت بهم زده شد تا قارچ ها بصورت یکنواخت پخش گردد. پس از آماده شدن زاد مایه تلقیح، زادمایه با نسبت ۲۰ درصد (وزنی –وزنی) به خاک اضافه شد.

تهیه الیسیتور قارچی: الیسیتورهای قارچی از روش Farakya *et al* (2005) استخراج شدند. بدین ترتیب که ابتدا جدایه های منتخب به یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری که حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت شامل ترکیبات عصاره مالت ۳ گرم در لیتر، عصاره مخمر۳ گرم در لیتر، پپتون ۵ گرم در لیتر و گلوکز ۱۰ گرم در لیتر و٦/٢ pH اضافه می شود و به مدت شش روز بر روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با سیکل ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار می‌گیرد. سپس فاز مایع محیط کشت با عبور کاغذ فیلتر واتمن شماره ۱ جمع آوری شده و محلول حاصل در (rpm) ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ می‌شود. محلول به دست آمده به دو قسمت تقسیم می‌شود. یک قسمت پس از عبور از فیلتر ۰/۲۲ میلی‌متری به عنوان الیسیتور قارچی مورد استفاده قرار می‌گیرد. قسمت دوم محلول در فشار ۱۵پوند بر اینچ مربع و ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شده و سپس به عنوان الیسیتور قارچی در نظر گرفته می‌شود. پیکره قارچ را نیز چندین بار با آب مقطر شستشو داده و سپس در آون با دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد خشک شده و در هاون خرد نموده و سپس ۱۰ گرم از آن را در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و در فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع و ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو نموده و سپس با سرعت (rpm)۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ نموده و مایع رویی را به عنوان عصاره سلولی جمع آوری کرده و در نهایت محلول به دست آمده به عنوان الیسیتور قارچی استفاده می‌شود. الیسیتور قارچی به دست آمده را در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری می‌شود.

شناسایی مبتنی بر PCR: استخراج DNAقارچ ها با روش Walsh *et al* (۱۹۹۱)، Suenaga *et al* (۲۰۰۵) و Conlon *et al*(۲۰۲۱) صورت گرفت. پس از انجام PCR محصول PCR توسط الکتروفورز روی ژل

۱درصد آگارز و بافر EDTA-Borate-Tris تفکیک و زیر نور UV عکس برداری شدند. واکنش PCR قارچ‌ها با استفاده از پرایمرهای Its1, Its4 انجام شد(جدول۱) و محصول واکنش به صورت یک باند در تقریبا حدود ٦٥٠ باز روی ژل آگارز مشاهده شد. توالی های محصول PCR در بانک اطلاعاتی NCBI BLAST مقایسه و در بانک ژن ثبت گردید.

جدول ۱- توالی پرایمرهای قارچ

Table 1- The sequence of fungal primers

Its1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
Its4	TCCTCCGCTTATTGATATGC

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ۳ سطح شوری و ۳ سطح الیسیتور زیستی انجام شد. هر تیمار شامل سه تکرار و هر تکرار شامل ۳ گیاهچه بود. در این تحقیق، عوامل بررسی شده شامل الیسیتورها در ۳ سطح کنسرسیوم قارچی(BFC)، الیسیتور قارچی با غلظت میلی‌گرم در لیتر ۱۰۰۰(EL1)، الیسیتور قارچی با غلظت میلی‌گرم در لیتر ۲۰۰۰(EL2)، عامل دوم شوری در سه سطح (صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) بود (جدول۲).

جدول۲- فاکتورها و تیمارهای اعمال شده در تحقیق

Table 2- Factors and treatments applied in research

فاکتورها	تیمارها
کنسرسیوم قارچی(BFC)	سوسپانسیون قارچ
الیسیتور قارچی(EL)	غلظت ۱: ۱۰۰۰ ppm(EL1) غلظت ۲: ۲۰۰۰ ppm(EL2)
تیمار تنش شوری در سه سطح	غلظت: شاهد غلظت: ۱۵۰ میلی مولار غلظت: ۳۰۰ میلی مولار

تیمار تنش شوری: یک ماه پس از کاربرد الیسیتورها تیمار شوری در سه غلظت صفر، ۱۵۰و ۳۰۰ میلی مولار NaCl روی گیاهچه‌های کشت بافتی تهیه شده از مؤسسه کشت و صنعت رعنا انجام شد. برای کاشت گیاهچه ها از خاک گلدان استفاده شد که هوای کافی به ریشه گیاه رساند و همچنین مواد آلی و غذایی را برای رشد گیاه را فراهم نمود. pH خاک مورد استفاده ٦ و EC ۵/۱ میلی موس بر سانتی متر بود. گیاهچه ها درون گلخانه ای سنتی با مشخصات زیر قرار گرفتند.

جمع آوری نمونه های گیاهی: جمع آوری نمونه های گیاهی در دو مرحله صورت گرفت. مرحله اول یک ماه بعد از کاربرد الیسیتورها و مرحله دوم سه ماه بعد از ایجاد تنش شوری انجام شد. نمونه های تهیه شده در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام ارزیابی متغییرهای مورد بررسی نگهداری شدند.

کلروفیل برگ ها: میزان کلروفیل برگ ها به روش (Arnon, 1967) انجام شد.

$$a = (19/3 \times A_{663} - 0/86 \times A_{645})v/100w$$ کلروفیل

$$b = (19/3 \times A_{645} - 3/6 \times A_{663})v/100w$$ کلروفیل

V: حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل ازسانتریفیوژ)

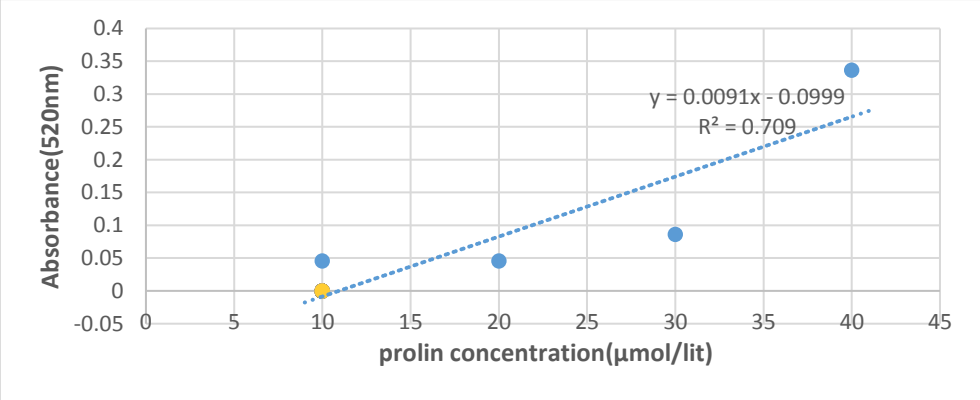
A: جذب نور در طول موج های ٦٦٣، ٦٤٥

W: وزن تر نمونه

برای بلنک نمودن دستگاه از استون ٪۸۰ استفاده شد.

پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. غلظت‌های مختلف پرولین به ترتیب در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد.

منحنی استاندارد با در دست داشتن غلظت‌های مختلف پرولین و جذب هر کدام از غلظت‌ها رسم شد و معادله منحنی استاندارد به دست آمد. جذب‌های به دست آمده در معادله منحنی استاندارد قرار داده شد و غلظت هر نمونه بر حسب میکرومول پرولین بر یک گرم وزن تر گیاه به دست آمد (نمودار۱).



نمودار ۱- نمودار منحنی کالیبراسیون غلظت‌های استاندارد پرولین

Fig 1- Calibration curve diagram of proline standard concentrations

ضمن تعریف معادله رگرسیون منحنی استاندارد رسم شد. سپس اقدام به قرائت میزان جذب در نمونه‌های گیاهی تهیه شده گردید و با استفاده ازمعادله منحنی مقدار پرولین در نمونه بدست آمد. عدد قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر معادل y در معادله بوده که از طریق معادله زیر میزان x به عنوان محتوای پرولین محاسبه شد. با توجه به این که ۰/۵ گرم از ماده تر گیاهی استفاده شد و نیز رقیق نمودن نمونه‌ها و نظر به این که محتوای پرولین بر حسب میکرومول در گرم نمونه محاسبه می‌شود، لذا از فرمول زیر جهت تعیین محتوای واقعی پرولین نمونه استفاده شد:

µmol proline of fresh weight material=((µgrproline/ml)×ml Toluene)/(115/5 µgr /µmole)/(grsample/5)

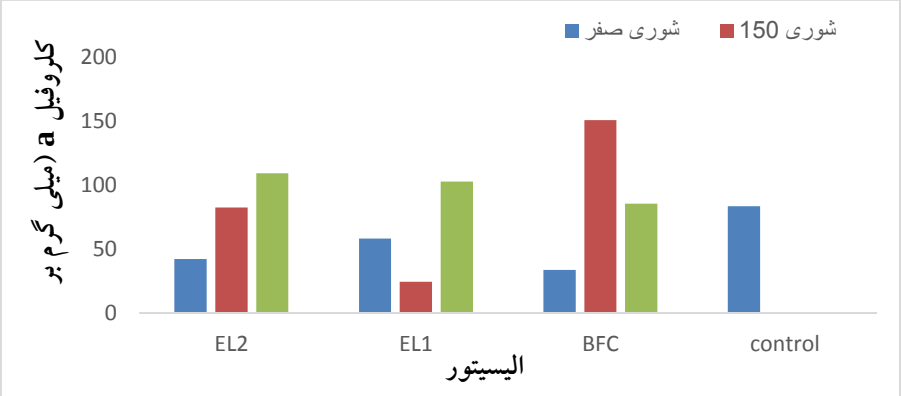
روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده های بدست آمده در نرم افزار Excel ثبت شده و توسط نرم افزار آماری SAS 9.1 آنالیز داده ها انجام می‌شود. برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح آماری ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از توالی های محصول PCR جدایه های نماینده قارچی منتخب در بانک اطلاعاتی NCBI BLAST: *Aspergillus tubingensis*، *spergillus niger*، *Pencillium chrysoyenum*

کلروفیل a: اثر متقابل سطوح شوری و الیسیتورها بر میزان کلروفیل a نشان داد که در الیسیتورهای مختلف واکنش متفاوتی با افزایش شوری، ازخود نشان دادند، در الیسیتور قارچ EL1 افزایش شوری، کلروفیل a ابتدا کاهش وسپس افزایش یافت، این در صورتی است که درکنسرسیوم قارچ زنده (BFC) عکس این حالت رخ داد به‌طوری که بیش‌ترین میزان کلروفیل a در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در تیمار کنسرسیوم قارچ

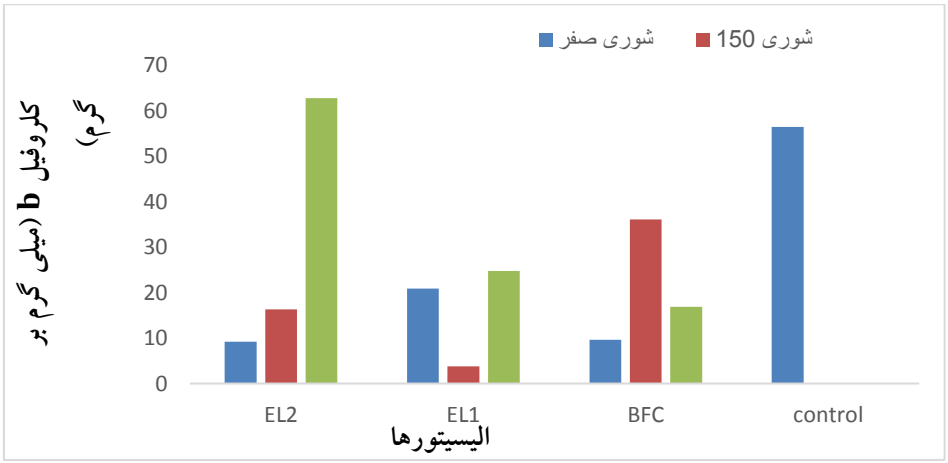
زنده (۱۵۰/۹ میلی‌گرم بر گرم) مشاهده گردید. در قارچ EL2 نیز با افزایش شوری، میزان کلروفیل a افزایش معنی‌داری یافت. همچنین الیسیتورهای قارچ‌های EL1 و EL2 و توانستند میزان کلروفیل a را در شوری ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری دهند (نمودار۲).



نمودار۲- اثر متقابل سطوح شوری و الیسیتورها بر کلروفیل a خرما

Fig 2- Interaction of salinity levels and elicitors on the amount of Chlorophyll a
Columns with different alphabet letter considered significant difference at the level less than 0.01 according to DMR test

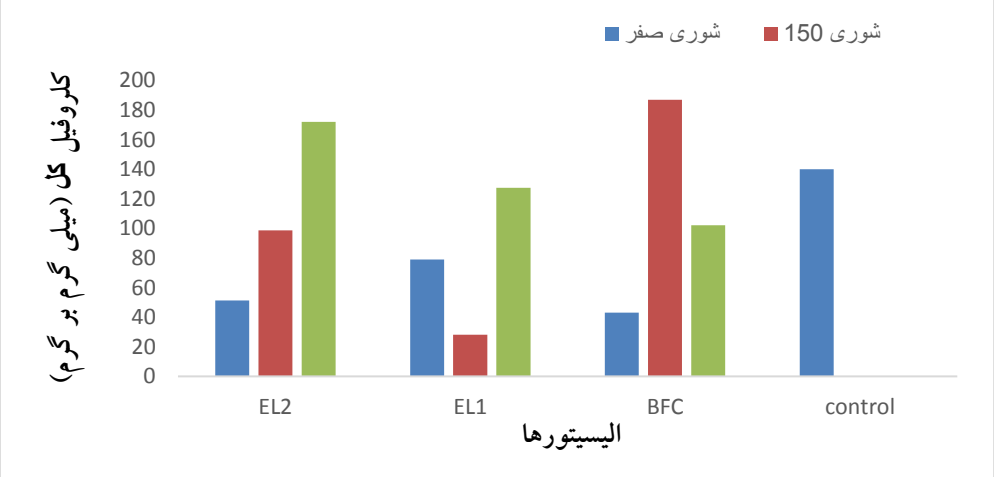
کلروفیل b: اثر متقابل سطوح شوری و الیسیتورها بر میزان کلروفیل b نشان داد که در الیسیتورهای مختلف واکنش متفاوتی با افزایش شوری، ازخود نشان دادند، در الیسیتور قارچ EL2 با افزایش شوری، کلروفیل b افزایش یافت، به‌طوری که بیش‌ترین میزان کلروفیل b در شوری ۳۰۰ میلی‌مولار در تیمار قارچ EL2 (۱۵۰/۹ میلی‌گرم بر گرم) مشاهده گردید. لازم به ذکر است که سایر تیمارها نسبت به شاهد میزان کلروفیل b کم‌تری داشتند (نمودار۳).



نمودار ۳- اثر متقابل سطوح شوری و الیسیتورها بر کلروفیل b خرما

Fig 3- Interaction of salinity levels and elicitors on the amount of Chlorophyll b
Columns with different alphabet letter considered significant difference at the level less than 0.01 according to DMR test

کلروفیل کل: اثر متقابل سطوح شوری و الیسیتورها بر میزان کلروفیل کل نشان داد که در الیسیتورهای مختلف واکنش متفاوتی با افزایش شوری، ازخود نشان دادند؛ داد به‌طوری که بیش‌ترین میزان کلروفیل کل در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در تیمار قارچ زنده (۱۸۷ میلی‌گرم بر گرم) مشاهده گردید. در قارچ EL2 نیز با افزایش شوری، میزان کلروفیل کل افزایش معنی‌داری یافت. همچنین الیسیتور قارچ EL2 توانست میزان کلروفیل کل را در شوری ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری دهند (نمودار٤).



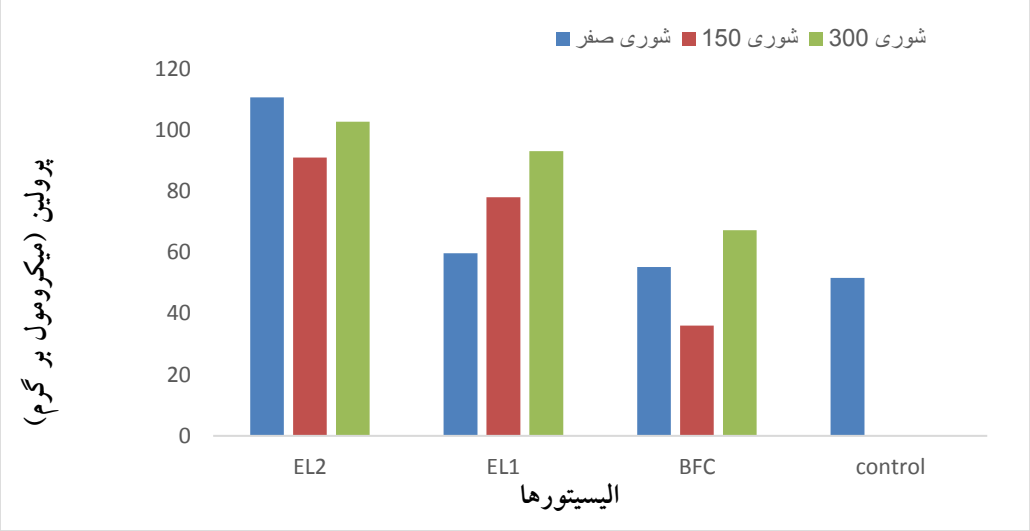
نمودار٤- اثر متقابل سطوح شوری و الیسیتورها بر کلروفیل کل خرما

Fig 4- Interaction of salinity levels and elicitors on the amount of total Chlorophyll Columns with different alphabet letter considered significant difference at the level less than 0.01 according to DMR test

نتایج این پژوهش نشان داد که در سطح بالای شوری، الیسیتورهای قارچ EL2 کلروفیل a و کل بیشتری نشان دادند و در سطح دوم تنش نیز کنسرسیوم قارچ زنده کلروفیل a بیشتری را موجب شد. مقدار کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در ظرفیت فتوسنتزی گیاهان هستند زیرا به‌طور مستقیم بر سرعت و میزان فتوسنتز و در نهایت تولید زیست‌توده مؤثر هستند. تغییر محتوای کلروفیل می‌تواند باعث تغییر ساختار کلروپلاست و ممانعت از عملکرد دستگاه فتوسنتزی شود، بنابراین افزایش و یا حفظ محتوای کلروفیل تحت تنش شوری می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور بیولوژیکی برای تحمل شوری در گونه‌های مختلف گیاهی مورد استفاده قرار گیرد (Ashraf and Harris, 2013). بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ، احتمالاً به علت وجود رابطه مثبت بین جذب منیزیم و فسفر و مقدار کلروفیل در گیاهان تلقیح شده باشد زیرا گزارش‌های مکرر از افزایش جذب این عناصر توسط این قارچ به گیاه میزبان ارائه گردیده است (Zarea *et al.*, 2012). افزایش بیوسنتز کلروفیل باعث افزایش رشد و محصول گیاه تحت تنش شوری می‌شود (kushwaha et al., 2020). در گزارشی kadian و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند گیاه *Cicer arietinum*

L.همزیست با قارچ مایکوریزا دارای محتوای کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان بدون همزیست تحت تنش شوری بودند. آنها بیان داشتند اثرات منفی شوری بر روی بیوسنتز کلروفیل در گیاهان همزیست به مراتب کمتر از گیاهان بدون همزیست بود. محتوای کلروفیل بیشتر در گیاهان همزیست می‌تواند نشان دهنده ضرورت میزان فتوسنتز بیشتر برای تأمین کربن قارچ در رابطه همزیستی با گیاه باشد (Wright *et al*., 1998; Chauhan *et al*., 2022).

پرولین: اثر متقابل سطوح شوری و الیسیتورها بر پرولین نشان داد که در الیسیتور قارچ EL1 با افزایش شوری، میزان پرولین افزایش یافت، این در صورتی است که در الیسیتور قارچ EL2، BFC با افزایش شوری، پرولین کاهش و سپس افزایش معنی‌داری یافت، به‌طوری که بیش‌ترین میزان پرولین در شوری صفر در تیمار قارچ EL2 (۱۱۰/۷ میکرومول بر گرم) مشاهده گردید. در شوری ۳۰۰ میلی‌مولار، الیسیتورهای قارچ EL1 و BFC توانستند پرولین را نسبت به سایر سطوح شوری افزایش دهند (نمودار ۵).



نمودار ۵- اثر متقابل سطوح شوری و الیسیتورها بر پرولین خرما

Fig 5- Interaction of salinity levels and elicitors on the amount of total Chlorophyll
Columns with different alphabet letter considered significant difference at the level less than 0.01 according to DMR test

تولید پرولین در زمان تنش از مکانیسم‌های تحمل گیاه در مقابل تنش است، زیرا با این مکانیسم سعی در حفظ آب گیاه دارد. در نتیجه گیاهانی که در زمان تنش بتوانند میزان پرولین مناسبی داشته باشند احتمالا تحمل بیشتری در محیط تنش خواهند داشت. همانطور که از نتایج مشخص است در سطوح متفاوت شوری الیسیتورهای متفاوت اثرگذار بوده‌اند، بنابراین در بکار بردن الیسیتورها جهت کاهش اثر تنش شوری در خرما باید به سطح تنش توجه نمود. نتایج این تحقیق با تحقیق قربانی و همکاران (۱۳۹۷) بر روی گوجه‌فرنگی مطابقت دارد، آنان نیز افزایش پرولین در تیمار قارچ در سطوح بالای شوری

گزارش و بیان کردند که گیاه گوجه‌فرنگی در صورت داشتن همزیستی با قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* می‌تواند به طور موثرتری تنش شوری را تحمل نماید. نتایج آزمایش‌های Aliyar در سال (۲۰۲۱) و Hajinia و همکاران (۲۰۱۱) و نشان می‌دهد که قارچ اندوفیت در شرایط تنش شوری سبب افزایش سنتز وتجمع پرولین شده است.

نتیجه‌گیری کلی

غربالگری قارچ‌ها نشان داد که بالاترین رشد میسیلیوم و مقاومت به تنش شوری در سویه‌های *Aspergillus tubingensis* S24، *Aspergillus niger* N12: و *Pencillium chrysoyenum* K12: مشاهده شد. این ویژگی ها بیانگر این است که عوامل بیولوژیک با برقراری ارتباط با گیاه به طور غیر مستقیم می‌توانند در شرایط تنش شوری موثر واقع شوند. بنابراین می‌توان با به کارگیری این عوامل بیولوژیکی در شرایط تنش شوری استفاده از مواد شیمیایی را کاهش داد.

منابع

1) Aliyar, S. 2021. The Effect of Endophytic Fungus Piriformospora indica on Germination and Growth of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under Salinity Stress Conditions. MSc Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz.
2) Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23: 112-121.
3) Ashraf, M. and P.J.C, Harris. 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*, 51: 163 -190.
4) Bates, L.S., Walderen, R.D. and I.D, Taere. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
5) Chauhan, S., Mahawar, S., Jain, D., Udpadhay, S. K., Mohanty, S. R., Singh, A. and E, Maharjan. 2022. Boosting sustainable Agriculture by Arbuscular Mycorrrhiza under stress condition: Mechanism and Future Prospective. *BioMed Research International*, 3: 1-28.
6) Conlon, B.H., Gostinčar, C., Fricke, J., Kreuzenbeck, N.B., Daniel, J.M., Schlosser, M.S., Peereboom, N., Aanen, D.K., De Beer, Z.W., Beemelmanns, C. and N, Gunde-Cimerman. 2021. Genome reduction and relaxed selection is associated with the transition to symbiosis in the basidiomycete genus *Podaxis*. iScience, 24: 102680.
7) El Kinany, S., El Hilali, R. and E, Achbani. 2022. Encancement of Date Palm Growth Throw the Use of Organic Fertilizer and Microbial Agents. *Journal of Soil Plant Nutrition*, 22: 1468-1477.
8) Farakya, S., Julka, A., Mehra, R., Datta, V., Srivastava, A.K. and V.S, Bisaria. 2005. Enhanced production of secondary metabolites by biotic elicitors in plant cell suspension cultures. Presented at 5th Asia Pacific Biochemical Engineering Conference, 15-19.
9) Ghorbani, A., Razavi, S.A., Ghasemi Omran, V.A. and H.A, Pirdashti. 2018. The effect of endophytic fungi symbiosis on some physiological parameters of tomato plant under 10-day salt stress. *Plant Process and Function*, 7(27): 193-206.
10) Hajinia, S., Zare, M.J., Mohammadi Goltapeh, E. and F, Rejali. 2011. Investigating the efficacy of endophytic fungus *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains on alleviation of detrimental effect of salt stress on wheat (*Triticum aestivum* CV. Sardari). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 4: 21–31.
11) Hazzouri, K.M., Jonathan, M. and D, Roy Nelson. 2020. Prospects for the Study and Improvent of Abiotic Stress Tolerance in Date Palms in the Post- Genomics Era.

Frontiers in Plant Scince. DOI: 10.3389/fpls. 2020. 00293.

12) Indeiragandhi, P., Anandham, R., Madahiyan, M. and T.M, Sa. 2008. Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth Plutella xylostella (lepidoptera: plutellidae). National library of Medicine, 56(4): 327-333.
13) Kabiria, M.G. and A, Hoque. 2019. A Review on Plant Responses to soil Salinity and Amelioration Strategies. *Oen Journal of Soil Science*, 9: 11.
14) Kadian, N., Yadav, K., Badda, N. and A, Aggarwal. 2013. AM fungi ameliorates growth, yield and nutrient uptake in Cicer arietinum L. Under salt stress. *Russian Agricultural Sciences*, 39: 321 -329.
15) Kushwaha, P., Kashyap, P.L., Bhardwaj, A.K., Kuppusamy, P., Srivastava, A.K. and R.K, Tiwari. 2020. Bacterial endophyte mediated plant tolerance to salinity: growth responses and mechanisms of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 36(26).*
16) Pourghaioomi, MR., Yousefi, R. and H, Dialami. 2020. Management of soil biological factors in Date production. *Hand book of Horticulture Science Research Institute*, vol 58105.
17) Suenaga, E. and H, Nakamura. 2005. Evaluation of three methods for effective extraction of DNA from human hair. *Journal of Chromatography*, 820: 137-141.
18) Walsh, P.S., Metzger, D.A. and R, Higuchi. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechnology*, 10: 506-513.
19) Wright, D.P., Read, D. J. and J.D, Scholes. 1998. Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L. *Plant, Cell and Environment*, 21: 881 –891.
20) Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F. and A, Varma. 2012. Effect of Piriformospora indica and Azospirillum strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology and Biochemistry*, 45: 139-146.