



## غربالگری برخی قارچ‌ها و باکتری‌های ارتقاء دهنده مقاومت نخل خرما به تنش

### شوری

## Screening of Some Fungi and Bacteria Improving Date Palm Resistance to Salinity Stress

بیتا صادقی<sup>۱</sup>، وحید عبدوسی\*<sup>۱</sup>، وحید زرین نیا<sup>۲</sup>، نادر حسن زاده<sup>۲</sup>

۱. گروه باغبانی و زراعی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\*نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (abdossi@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۳، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۲

### 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 و باکتریایی که از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های خاک محسوب می‌شوند، در کاهش تنش‌های محیطی مانند شوری، به یک راهکار جهانی تبدیل شده است. بنابراین به‌منظور غربالگری قارچ‌ها و باکتری‌های ارتقاء دهنده مقاومت نخل خرما به تنش شوری، آزمایشی در شهرستان شادگان استان خوزستان انجام شد. به منظور غربالگری سویه‌های قارچی مقاوم به شوری، ۳۶ سویه از قارچ‌های جداسازی شده از منطقه ریزوسفر نخل خرما در غلظت‌های صفر، ۲۵۰۰، ۷۵۰۰، ۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۱۲۵۰۰، ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نمک طعام کشت شد. میانگین رشد قطر و درصد بازدارندگی نشان داد که کمترین درصد بازدارندگی ناشی از شوری نمک طعام در قارچ‌های *Fusarium solani*، *Aspergillus tubingensis*، *Penicillium chrysoyenum* و *Aspergillus niger* مشاهده شد. کاربرد قارچ‌های مقاوم به شوری در شرایط تنش شوری به صورت الیسیتور زنده و غیرزنده توصیه می‌گردد. اما با توجه به نقشی که قارچ *Fusarium solani* در بیماری پوسیدگی ریشه خرما دارد کاربرد این قارچ نیاز به مطالعات گسترده‌تری دارد. غربالگری زیستی باکتری‌ها با روش ارزیابی تولید ACC-Deaminase نشان داد که باکتری‌های *Bacillus pumilus* و *Bacillus safensis* قابلیت تولید آنزیم بیشتری را دارند. این آنزیم در شرایط تنش پیش ماده تولید اتیلن را می‌شکند و از تولید اتیلن که در شرایط تنش تولید می‌شود، جلوگیری می‌کند.

واژه‌های کلیدی: نخل خرما، باکتری، درصد بازدارندگی، قارچ.

### مقدمه

به لحاظ جایگاه اقتصادی و اجتماعی خرما در مناطق خرماخیز (خاورمیانه) و موقعیت آن به‌عنوان یک محصول مهم در حوزه باغبانی، توجه به ارتقاء کیفیت این محصول و افزایش عملکرد آن ضروری به نظر می‌رسد. خرما یک منبع سرشار از مواد غذایی است که به‌عنوان میوه، شیره و خوراک دام مصرف می‌شود (Yaish et al., 2015). عوامل فراوانی بر کیفیت و عملکرد خرما موثرند که شامل تنش‌های زنده و غیرزنده، آفات و بیماری‌ها، شوری و خشکی هستند. در سال‌های اخیر درختان خرما از میزان بالای نمک خاک دچار آسیب و خسارت شده‌اند. مقدار شوری خاک در ۹۰ درصد موارد در خوزستان بیش از ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر است که برای خرما مناسب نیست (Suenaga and Nakamura., 2005). شهرستان شادگان تنها ۱۰۰ کیلومتر با اهواز فاصله دارد. این شهرستان در سال ۹۴ رتبه برتر تولید خرما استان خوزستان را کسب کرده و حالا تبدیل به قطب تولید و صادرات خرما خوزستان شده است. شوری بیش از اندازه آب در شادگان، آبادان، خرمشهر و هندیجان خطری است که نخلستان‌ها را به

شدت تهدید می‌کند. دلیل شوری آب ورودی نخلستان‌های خوزستان ناشی از آب سد گتوند و پساب‌های نیشکر گزارش شده است (Suenaga and Nakamura, 2005) گرچه نخیلات تا حدودی به شوری مقاوم هستند اما شوری استاندارد آب باید کمتر از ۲۷۰۰ میکروموس و pH کمتر از ۸ باشد (Ali Hourri, 2016). به دلیل شوری آب آبیاری ۳۰ درصد از نخلستان‌های شادگان خشک شده‌اند. در سال‌های اخیر درختان خرما از میزان بالای نمک خاک (ناشی از فعالیتهای انسانی مثل استفاده زیاد از آب‌های زیرزمینی) دچار آسیب و خسارت شده‌اند. شوری خاک یک مشکل جهانی کشاورزی است. حدود ۲۰ درصد زمین‌های زراعی و ۵۰ درصد مناطق آبیاری شده شور هستند (Murali et al., 2021).

گرچه تعدادی از ارقام خرما توانایی سازگاری با میزان بالای نمک (تا ۱۲/۸ دسی‌زیمنس بر متر) را دارند، ولی شوری بیش از حد خاک سبب کاهش قابل توجهی در کیفیت محصول و کاهش عملکرد آن می‌شود (Alihammedi and Kurup, 2012). غلظت بالای نمک سبب کاهش جذب آب شده و منجر به کاهش رشد (Murali et al., 2021) و توقف رشد در نهایت مرگ گیاهان حساس به شوری می‌شود. این ترکیبات اسمزی، موجب بسته شدن روزنه‌ها (از طریق مسیر سنتز ABA) می‌شوند. و با کاهش تبادلات گازی، میزان فتوسنتز را کاهش می‌دهند (El-Esawi et al., 2020). به علاوه تنش اسمزی و تجمع یون سدیم، روی کلروفیل اثر می‌گذارد که یک رنگدانه ضروری فتوسنتز است و منجر به کاهش زیست توده می‌شود. تجمع سدیم و تنش اسمزی سبب ایجاد تنش‌های ثانویه مثل تنش اکسیداتیو و کمبود مواد غذایی می‌شود. تنش اکسیداتیو ناشی از تولید  $(ROS)O^{2-}$  در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتز (در کلروپلاست)، تنفس (در میتوکندری) و تنفس (در پراکسی زوم) است. فعالیت گونه‌های فعال (ROS) ممکن است سبب بروز صدماتی همچون اکسید شدن و در نتیجه منجر به تغییر ساختار غشاء و از هم پاشیدگی یکپارچگی آن شود. تخریب چربی‌های غشا منجر به نشت الکترولیت‌ها می‌شود و متعاقب آن عملکرد سلولی را دچار مشکل کرده و مرگ سلولی را به دنبال دارد. بنابراین میزان مقاومت به تنش شوری را می‌توان بر پایه توانایی گیاه در جلوگیری از نشت الکترولیت‌ها یا نگهداری غشاء تحت شرایط شوری ارزیابی کرد (Alihammedi and Kurup, 2012).

ترکیبات میکروبی خاکزی نقش قابل توجهی را در رشد و توسعه گیاهان میزبان در شرایط تنش‌های زنده و غیرزنده ایفا می‌کنند. قارچ‌های خاکزی ممکن است در فرآیند رشد و توسعه گیاه مؤثر باشند (El-Kinany et al., 2022). قارچ‌های خاکزی در مواجهه شدن با تنش‌های محیطی اغلب از تولید اتیلن (که در شرایط تنش تولید می‌شود) جلوگیری می‌کنند. قارچ‌های خاکزی همچنین در 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 نقش دارند (Indeiragandhi et al., 2008).

قارچ‌های ریزوسفری مقیم خاک را  $PGPF^8$  می‌نامند. این قارچ‌ها از منابع زیستی شناخته شده با خصوصیات مثبت بی‌شمار هستند و نقش کلیدی را در کشاورزی ایفا می‌کنند. کاربرد  $PGPF$ ‌ها در شرایط تنش یک راه زیست محیطی است. این قارچ‌ها سبب افزایش عملکرد، افزایش رشد شاخه و ریشه، افزایش محتوای کلروفیل و... در شرایط تنش می‌شوند. قارچ‌های مؤثر در شرایط تنش شامل (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Talaromuces*, *Trichoderma*, *Phyophtora*, *Pencillium*, *Rhizoctonia*, *Gliocladium*, *Phoma*) می‌باشند (Munns, 2002).

میان باکتری‌های مختلف،  $PGPR^9$ ‌ها نقش قابل توجهی در مدیریت تنش‌های زنده و غیر زنده ایفا می‌کنند (Kumar et al., 2020). یک گروه بزرگ میکروارگانیزم‌های باکتریایی  $PGPR$ ‌ها هستند که در ریزوسفر گیاه زندگی می‌کنند و در سیستم ریشه گیاه کلونیزه می‌شوند. آن‌ها در بذور و در خاک زنده هستند به ریشه‌ی گیاهان حمله کرده و بوسیله کلون کردن در ریشه گیاه اندوفیت می‌شوند. این باکتری‌ها سبب افزایش جذب مواد غذایی از محیط، افزایش رشد ریشه، سطح برگ، میزان کلروفیل، میزان پروتئین، نیتروژن و منیزیم می‌شوند. نقش دیگر  $PGPR$ ‌ها افزایش مقاومت به تنش خشکی و شوری، افزایش وزن شاخه و تاخیر در پیری برگ‌ها می‌باشد (Prakash Singh et al., 2022).

PGPF: Rhizosphere-resident Plant Growth Promoting Fungi -۱

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria -۲

در پژوهشی با عنوان ارزیابی تولید آنزیم<sup>۸</sup> Acc- deaminase توسط باکتری در محصولاتی که تحت شرایط تنش قرار دارند، گزارش شد که ۱- آمینو سیکلو پروپان ۱-کربوکسیلیک اسید دامیناز نقش مهمی را در تنش‌های زنده و غیرزنده ایفا می‌کند و سبب افزایش رشد در شرایط تنش می‌شود. باکتری‌های محرک رشد (PGPB)<sup>۱</sup> با تولید ACCD در شرایط تنش سبب کاهش تولید اتیلن می‌شوند (Prakash Singh *et al.*, 2022). در پژوهشی با عنوان کاهش تنش شوری توسط ابزارهای بیولوژیکی گزارش کردند که تنش شوری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های رو به رو با کل محصولات کشاورزی است. و باکتری‌های اندوفیت (PGPB) و میکروبیوم‌ها را به‌عنوان یک ابزار بیولوژیکی یا زنده برای کاهش عوارض ناشی از تنش شوری معرفی کردند (Kumar *et al.*, 2020). در پژوهشی دیگر که Yaish و همکاران (2015) با عنوان جداسازی و شناسایی باکتری‌های محرک رشد در درخت خرما و پتانسیل آن در مقاومت به تنش شوری انجام دادند دریافتند که این باکتری‌ها می‌توانند سطح تولید اتیلن داخلی و میزان IAA را تغییر دهند و همچنین بر جذب مواد مغذی توسط ریشه موثر بوده و رشد و نمو درخت خرما را تحت شرایط تنش شوری بهبود بخشند.

با توجه به مشکل شوری آب آبیاری و گستره وسیع خاک‌های شور و اهمیت تولید محصول در این شرایط و با توجه به اینکه نقش میکروارگانیسم‌ها در رشد و نمو گیاه تحت شرایط شور چندان مورد بررسی قرار نگرفته است و همچنین به دلیل اهمیت خرما به عنوان یک محصول عمده مناطق خشک و نیمه‌خشک، این پژوهش با هدف غربالگری برخی قارچ‌ها و باکتری‌های ارتقاء دهنده مقاومت نخل خرما به تنش شوری اجرا گردید.

## مواد و روش‌ها

### جداسازی قارچ‌ها و باکتری‌ها

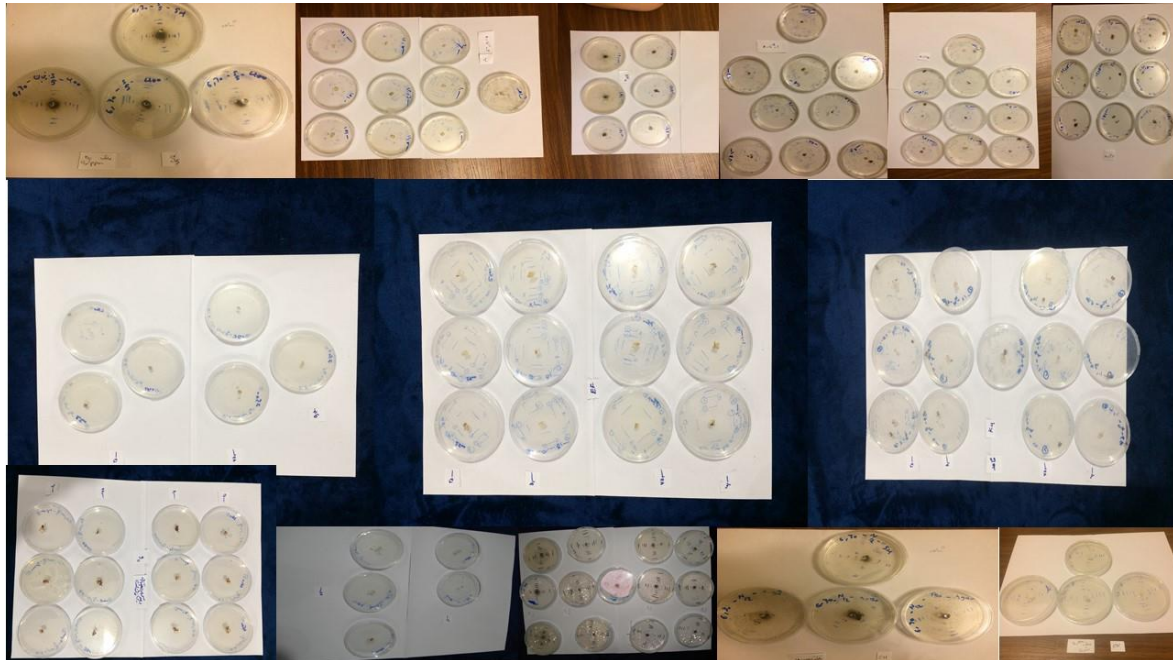
این پژوهش در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۸ با نمونه‌برداری خاک در شهرستان شادگان، از ۵ منطقه مختلف ریزوسفری آغاز شد. بدین منظور هشت نقطه به شکل W در هر منطقه انتخاب شد و از هر نقطه یک کیلوگرم خاک از عمق ۱۵ سانتی‌متری ریزوسفر برداشت شد. ۸ نمونه خاک جمع‌آوری شده در هر منطقه را با هم مخلوط کرده و یک کیلوگرم خاک به‌عنوان نمونه آن منطقه در کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات منتقل شد. کشت قارچ، شمارش کلونی‌ها و خالص‌سازی کلونی‌ها (شکل ۱) به روش Outili و همکاران (۲۰۲۲) انجام گرفت و در انتها قارچ‌های خالص‌سازی شده برای انجام مراحل بعدی به نام‌های F<sub>5</sub>, AC<sub>6</sub>, N<sub>23</sub>, N<sub>12</sub>, K<sub>10</sub>, S<sub>25</sub>, S<sub>24</sub>, S<sub>5</sub>, N<sub>12</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>18</sub>, G<sub>20</sub>, A-10-1-1, A-10-1-2, A-10-2, A-10-3-1, A-10-3-2, K<sub>12</sub>, K<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>9</sub>, EN, EH, EF, EL, EC, B<sub>1</sub>, B<sub>4</sub>, A-10-1-1 الف، A-10-1-2 ب، A-10-2 الف، A-10-3-3 و A-10-4 نامگذاری شد.



شکل ۱- خالص‌سازی کلونی‌ها

Fig. 1. Colony purifications.

به منظور جداسازی سویه های قارچی مقاوم به شوری، سویه های قارچی جمع آوری شده از خاک در محیط کشت واتر آگار<sup>۱</sup> حاوی غلظت های ۲۵۰۰، ۵۰۰۰، ۷۵۰۰، ۱۰۰۰۰، ۱۲۵۰۰ و ۱۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر نمک طعام که با روش ترکیب با محیط کشت آماده شده بودند، کشت شد. سپس پلیت ها را در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده و بعد از گذشت ۲۴ ساعت قطر کلونی های تشکیل شده اندازه گیری و ثبت شد. قطر قارچ ها روی محیط کشت پس از پر شدن پتری های شاهد طی مدت زمان یک هفته، با استفاده از کولیس و بر حسب میلی متر اندازه گیری شد.



شکل ۲- بررسی توان رشد سویه های قارچی در غلظت های متنوع شوری تحت شرایط درون شیشه (*in vitro*)  
Fig. 2. Investigating the growth of fungal isolates at a variety of salinity concentrations under *in vitro* conditions.

سپس میانگین قطر رشد کلونی قارچ در هر تکرار و برای هر تیمار اندازه گیری شد. درصد بازدارندگی غلظت های مختلف شوری با بهره گیری از فرمول (Abbot, 1925) تعیین شد.

$$\text{درصد بازدارندگی} = \left( \frac{\text{قطر کلونی تیمار شده} - \text{قطر کلونی شاهد}}{\text{قطر کلونی شاهد}} \right) \times 100$$

### باکتری

نمونه های ریشه و برگ از نهالستانی در شادگان تهیه گردید. نمونه ها به نمونه های A, B, C, D, E و Root نامگذاری شدند. نمونه A از برگ های سالم پاجوش ها گرفته شد، نمونه B از برگ پاجوش های با علائم سوختگی تهیه گردید. نمونه C از برگ های نخل مادر، نمونه D از برگ پاجوش های با لکه های قهوه ای و نمونه E از دم برگ های نخل مادر تهیه شدند. نمونه Root به دلیل تهیه شدن از ریشه گیاه به این نام نامگذاری شد. سپس نمونه های ضد عفونی شده با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۵ دقیقه استریل سطحی شدند. پس از ضد عفونی نمونه ها حداقل ۳ بار شستشو با آب مقطر استریل، نمونه ها به قطعات ۵ تا ۸ میلی متری برش داده شدند و با پنس استریل به لوله های حاوی آب مقطر منتقل و سوسپانسیون نمونه ها روی محیط کشت <sup>۲</sup>NA کشت شدند و در درون انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار داده شدند. کلونی های باکتریایی منتخب خالص سازی و برای مطالعات بعدی در لوله های آگار شیب دار نگهداری شدند.

## غربالگری زیستی باکتری‌ها

### بررسی تولید ACC deaminase<sup>۱</sup>

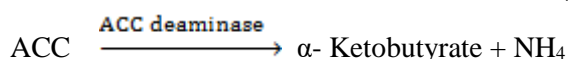
مشخص شده است باکتری‌هایی که به شوری مقاوم هستند تولید آنزیم ACC دی آمیناز می‌کنند. PGPB<sup>۲</sup> ها قادر هستند با تولید آنزیم ACC مانع تولید اتیلن در خاک‌های شور شوند. در نتیجه گیاه در خاک‌های شور به رشد طبیعی خود ادامه می‌دهد. برای انجام این آزمایش از روش Gupta و Pandey (۲۰۱۹) به شرح زیر استفاده شد. محیط کشت DF<sup>۳</sup> به عنوان محیط کشت پایه آماده گردید. PH محیط کشت پایه با KOH (5M) در ۷/۲ تنظیم و سپس ۱۰ گرم آگار به آن اضافه و در اتوکلاو استریل می‌شود. محیط کشت پایه DF پس از اتوکلاو در حالیکه نیمه گرم است ACC ۳ مولار (۰/۳mg ACC) را در ۲ ml آب مقطر استریل (را به محیط کشت پایه اضافه نموده و داخل پتری‌های استریل توزیع می‌گردد. تیمار شاهد بدون ACC است.

### روش سنجش آزمایش

برای سنجش از روش زیر استفاده شد:

### روی محیط کشت جامد

آنزیم ACC deaminase در سیتوپلاسم باکتری‌هاست. باکتری‌های PGPR<sup>۴</sup> و PGPB<sup>۵</sup> این آنزیم را بیشتر تولید می‌کنند. کار این آنزیم شکستن ACC و جلوگیری از تولید اتیلن است. اتیلن وظیفه اختلال در رشد گیاه و ریشه را دارد. در شرایط تنش مثل شوری یا خشکی تولید اتیلن موجب می‌شود گیاه نتواند تمام ژن‌های مفید خود را فعال کند و در نتیجه با عدم بیان ژن‌های مفید، پروتئین‌های مورد نیاز گیاه تأمین نمی‌شود و رشد گیاه متوقف می‌شود. بنابراین استفاده از باکتری‌ها بدین منظور است که به‌همراه آنزیم ACC deaminase، ACC را بشکنند و جلوی تولید اتیلن گرفته شود (در غیر اینصورت ACC خودبخود تبدیل به اتیلن خواهد شد زیرا پیش ساز اتیلن ACC است)



در واقع در روش‌های سنجش آنزیم ACC deaminase بطور غیرمستقیم، مقدار  $\alpha$ -Ketobutyrate سنجیده می‌شود. زیرا باکتری با آنزیم خود این ماده را تولید می‌کند. بنابراین برای محیط کشت مایع سنجش با دستگاه اسپکتروفتومتر از ماده استاندارد  $\alpha$ -Ketobutyrate استفاده شد. سنجش دستگاه اسپکتروفتومتر در ۴۵۰ نانومتر انجام شد. برای محیط کشت جامد ایزوله‌هایی که آنزیم ACC deaminase تولید کنند دور کلونی یک لایه بیرونی پر رنگ ظاهر می‌شود. باکتری‌هایی که دارای قابلیت تولید آنزیم بودند بصورت سوسپانسیون ۲ گرم در ۱۰ لیتر آب تهیه شد و ریشه‌های تهیه شده در این سوسپانسیون قرار گرفت و کشت گردید.

### شناسایی مبتنی بر PCR

استخراج DNA باکتری‌ها به روش لیز قلیایی (Elbouthiri *et al.*, 2009) انجام شد و استخراج DNA قارچ‌ها با روش Conlon و همکاران (۲۰۲۱)، Suenaga و همکاران (۲۰۰۵) صورت گرفت. برای شناسایی سویه‌های باکتری به روش مولکولی از تکثیر ژن 16s r RNA توسط یکی از آغازگرهای عمومی که در جدول (۲) آمده است استفاده شد. پس از انجام PCR محصول PCR توسط الکتروفورز روی ژل ۱ درصد آگارز و بافر EDTA-Borate-Tris تفکیک و زیر نور UV عکس برداری شدند. باند مرتبط با 16srRNA تقریباً حدود ۱۵۰۰ باز است. واکنش PCR قارچ‌ها با استفاده از پرایمرهای Its1، Its4 انجام شد (جدول ۱) و محصول واکنش به صورت یک باند در تقریباً حدود ۶۵۰ باز روی ژل آگارز مشاهده شد. توالی‌های محصول PCR در بانک اطلاعاتی NCBI BLAST مقایسه و در بانک ژن ثبت گردید.

Deorkin and Foster -۳	Plant growth promoting bacteria -۲	Aminocyclopropane-1-carboxylic acid -۱
	Plant growth-promoting bacteria -۵	Plant growth-promoting rhizobacteria -۴

جدول ۱- توالی پرایمرهای قارچ.

Table 1. The sequence of fungal primers.

Its1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
Its4	TCCTCCGCTTATTGATATGC

جدول ۲- توالی جفت آغازگر عمومی مورد استفاده در آنالیز ملکولی باکتری‌ها.

Table 2. The sequence of universal primary pairs used in the molecular analysis of bacteria.

P1	5'-CGGGATCCAGAGTTTGGATCCTGGTCAGAACGAACGCT-3'
P6	5'-CGGGATCCTACGGCTACCTTGTACGACTTCACCCC-3'

## نتایج

نتایج حاصل از توالی‌های محصول PCR در بانک اطلاعاتی NCBI BLAST به شرح زیر می‌باشد:

قارچ‌های شناسایی شده:

S24: *Aspergillus tubingensis*. N12: *Aspergillus niger*. K12: *Penicillium chrysogenum*. EN: *Fusarium solani*

باکتری‌های شناسایی شده:

A: *Bacillus pumilus* و Root2: *Bacillus safensis*

## قارچ

تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با درصد بازدارندگی رشد سویه‌های مختلف قارچ در غلظت‌های مختلف شوری نشان داد که درصد بازدارندگی تحت تأثیر سویه قارچ، شوری و برهمکنش سویه قارچ، شوری در سطح ۰.۱٪ معنی‌دار گردید (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با درصد بازدارندگی رشد سویه‌های مختلف قارچ در غلظت‌های مختلف شوری.

Table 3. Analysis of variance of the data in growth inhibition of different fungal strains at the different concentrations of salinity.

ضریب تغییرات C.V%	ارزش F F.S	میانگین مربعات M.S	مجموع مربعات S.S	درجه آزادی D.F	منبع تغییر S.V
	383/6**	5568/3	194890/8	35	سویه قارچ (Strain)
	3066/0**	44504/9	267029/1	6	شوری (Salinity)
11/1	94/7**	1374/9	288734/7	210	سویه قارچ × شوری (Strain×Salinity)
	-	14/5	7315/9	504	خطا (Error)
	-	-	757970/5	755	کل (Total)

\*\* معنی‌دار در سطح ۱ درصد

\*\* Significant at a 1 % level

مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد در بین سویه‌های قارچ (جدول ۴) در هر غلظت شوری نشان داد که در بین قارچ‌های به کار برده شده سویه‌های N12، K12، S24 و EN کم‌ترین درصد بازدارندگی را داشتند.

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد در بین سویه‌های قارچ در هر غلظت شوری.

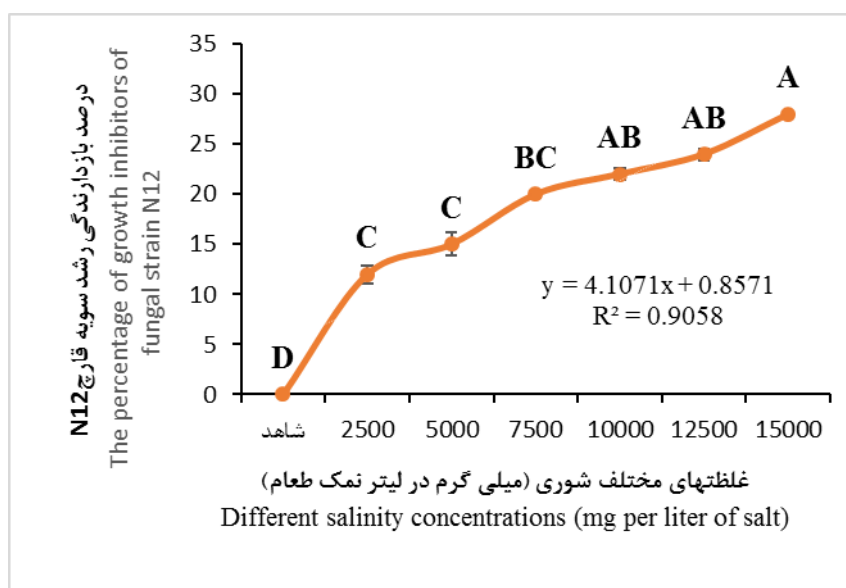
Table 4. Comparison of the mean percentage of growth inhibition between fungal strains per concentration of salinity.

						شوری	
15000	12500	10000	7500	5000	2500	شاهد (صفر) Control	Salinity سویه قارچ Fungi Strain
A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	B75 <sup>ab</sup>	C39 <sup>D</sup>	C37 <sup>cd</sup>	D0 <sup>a</sup>	G20
A76 <sup>b</sup>	A75 <sup>b</sup>	B55 <sup>D</sup>	C33 <sup>ghi</sup>	D12 <sup>ijk</sup>	E0 <sup>l</sup>	E0 <sup>a</sup>	B1
A46 <sup>ef</sup>	A44 <sup>ghi</sup>	B32 <sup>jkl</sup>	C18 <sup>lm</sup>	C18 <sup>gh</sup>	C18 <sup>gh</sup>	D0 <sup>a</sup>	EC
A42 <sup>fg</sup>	A42 <sup>hi</sup>	AB38 <sup>ijj</sup>	AB38 <sup>efg</sup>	BC34 <sup>de</sup>	C31 <sup>de</sup>	D0 <sup>a</sup>	S5
A59 <sup>c</sup>	B47 <sup>fgh</sup>	C34 <sup>jk</sup>	D27 <sup>ijk</sup>	E17 <sup>hi</sup>	F0 <sup>l</sup>	F0 <sup>a</sup>	G3
A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	B76 <sup>a</sup>	C64 <sup>a</sup>	D14 <sup>hi</sup>	E0 <sup>a</sup>	AC6
A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	B40 <sup>ef</sup>	B38 <sup>d</sup>	C0 <sup>l</sup>	C0 <sup>a</sup>	G18
A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	B0 <sup>r</sup>	B0 <sup>p</sup>	B0 <sup>n</sup>	B0 <sup>l</sup>	B0 <sup>a</sup>	B4
A34 <sup>hi</sup>	A31 <sup>kl</sup>	B14 <sup>pq</sup>	B14 <sup>mn</sup>	BC9 <sup>klm</sup>	CD41 <sup>cl</sup>	D0 <sup>a</sup>	K10
A100 <sup>a</sup>	B56 <sup>e</sup>	B53 <sup>de</sup>	C12 <sup>no</sup>	D0 <sup>n</sup>	D0 <sup>l</sup>	D0 <sup>a</sup>	F5
A100 <sup>a</sup>	B46 <sup>gh</sup>	B42 <sup>fgh</sup>	C26 <sup>jk</sup>	D18 <sup>gh</sup>	D16 <sup>hi</sup>	E0 <sup>a</sup>	G1
A82 <sup>j</sup>	AB24 <sup>mn</sup>	AB22 <sup>no</sup>	BC20 <sup>lm</sup>	C15 <sup>hij</sup>	C12 <sup>ij</sup>	D0 <sup>a</sup>	N12
A59 <sup>c</sup>	A53 <sup>ef</sup>	B32 <sup>klm</sup>	C22 <sup>kl</sup>	D9 <sup>ijklm</sup>	E0 <sup>l</sup>	E0 <sup>a</sup>	G5
A100 <sup>a</sup>	B28 <sup>lm</sup>	B26 <sup>mn</sup>	C0 <sup>p</sup>	C0 <sup>n</sup>	C0 <sup>l</sup>	C0 <sup>a</sup>	EI
A32 <sup>ij</sup>	B21 <sup>no</sup>	B17 <sup>opq</sup>	C9 <sup>no</sup>	C8 <sup>klm</sup>	C7 <sup>jk</sup>	D0 <sup>a</sup>	K12
A54 <sup>cd</sup>	B30 <sup>klm</sup>	C12 <sup>q</sup>	D0 <sup>p</sup>	D0 <sup>n</sup>	D0 <sup>l</sup>	D0 <sup>a</sup>	EF
A40 <sup>gh</sup>	AB34 <sup>jk</sup>	B31 <sup>klm</sup>	B29 <sup>hij</sup>	C10 <sup>ijkl</sup>	CD4 <sup>kl</sup>	D0 <sup>a</sup>	EL
A100 <sup>a</sup>	B27 <sup>lmn</sup>	C4 <sup>r</sup>	C0 <sup>p</sup>	C0 <sup>n</sup>	C0 <sup>l</sup>	C0 <sup>a</sup>	S25
A47 <sup>ef</sup>	B39 <sup>ij</sup>	C27 <sup>lmn</sup>	C <sub>26</sub> <sup>jk</sup>	C25 <sup>f</sup>	D17 <sup>ghi</sup>	E0 <sup>a</sup>	AN10
A47 <sup>b</sup>	B63 <sup>cd</sup>	C38 <sup>hij</sup>	D15 <sup>mn</sup>	D14 <sup>hij</sup>	D14 <sup>hi</sup>	E0 <sup>a</sup>	K9
A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	B41 <sup>ghi</sup>	B38 <sup>efg</sup>	B36 <sup>d</sup>	C28 <sup>ef</sup>	D0 <sup>a</sup>	N23
A100 <sup>a</sup>	B44 <sup>ghi</sup>	B42 <sup>fgh</sup>	B41 <sup>e</sup>	C3 <sup>mn</sup>	C0 <sup>l</sup>	C0 <sup>a</sup>	K4
A33 <sup>ij</sup>	B30 <sup>klm</sup>	C18 <sup>op</sup>	D0 <sup>p</sup>	D0 <sup>n</sup>	D0 <sup>l</sup>	D0 <sup>a</sup>	S24
A56 <sup>cd</sup>	B49 <sup>fg</sup>	C36 <sup>ijk</sup>	D28 <sup>ijk</sup>	DE24 <sup>fg</sup>	E19 <sup>gh</sup>	F0 <sup>a</sup>	S6
A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	B41 <sup>ghi</sup>	B39 <sup>efg</sup>	B38 <sup>d</sup>	C31 <sup>de</sup>	D0 <sup>a</sup>	EH
A21 <sup>k</sup>	AB15 <sup>o</sup>	B12 <sup>q</sup>	BC9 <sup>no</sup>	CD3 <sup>mn</sup>	D0 <sup>l</sup>	D0 <sup>a</sup>	EN
A100 <sup>a</sup>	B58 <sup>de</sup>	B57 <sup>d</sup>	C50 <sup>d</sup>	C49 <sup>bc</sup>	C47 <sup>b</sup>	D0 <sup>a</sup>	A-10-1-1
A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	A100 <sup>a</sup>	B80 <sup>a</sup>	C48 <sup>c</sup>	D4 <sup>kl</sup>	D0 <sup>a</sup>	A-10-3-2
A100 <sup>a</sup>	B79 <sup>b</sup>	BC74 <sup>b</sup>	CD70 <sup>b</sup>	CD68 <sup>a</sup>	D67 <sup>a</sup>	E0 <sup>a</sup>	A-10-3-3
A100 <sup>a</sup>	B68 <sup>c</sup>	B64 <sup>c</sup>	C54 <sup>b</sup>	D40 <sup>d</sup>	E22 <sup>fg</sup>	F0 <sup>a</sup>	A-10-3-1
A50 <sup>de</sup>	A46 <sup>gh</sup>	A46 <sup>fg</sup>	B35 <sup>fgh</sup>	C0 <sup>n</sup>	C0 <sup>l</sup>	C0 <sup>a</sup>	A-10-2-1
A73 <sup>b</sup>	A69 <sup>c</sup>	B48 <sup>ef</sup>	C8 <sup>o</sup>	CD51 <sup>mn</sup>	D0 <sup>a</sup>	D0 <sup>a</sup>	بA-10_1_2_
A73 <sup>b</sup>	B67 <sup>c</sup>	C58 <sup>d</sup>	C54 <sup>d</sup>	D53 <sup>bc</sup>	E42 <sup>bc</sup>	F0 <sup>a</sup>	الفA_10_2_
A47 <sup>ef</sup>	A46 <sup>gh</sup>	A44 <sup>fgh</sup>	A43 <sup>e</sup>	B36 <sup>d</sup>	B32 <sup>de</sup>	C0 <sup>a</sup>	الفA-10_1_2_
A74 <sup>b</sup>	B65 <sup>c</sup>	B64 <sup>c</sup>	BC60 <sup>c</sup>	C55 <sup>b</sup>	D46 <sup>b</sup>	E0 <sup>a</sup>	A-10_1_3
A45 <sup>efg</sup>	AB39 <sup>ij</sup>	B38 <sup>hij</sup>	BC34 <sup>gh</sup>	C55 <sup>b</sup>	D20 <sup>gh</sup>	E0 <sup>a</sup>	A_10_4

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. حروف کوچک برای مقایسه ستونی (مقایسه سویه‌های قارچ در هر غلظت شوری) و حروف بزرگ برای مقایسه ردیفی (مقایسه غلظت‌های مختلف شوری در هر سویه قارچ) به کار رفته‌اند.

The means with at least one letter in common do not differ significantly at a 5% level for Duncan's test. The lower case is used for column comparison (comparing fungal strains per salinity concentration) and the upper case for row comparison (comparing different salinity concentrations per fungal strain).

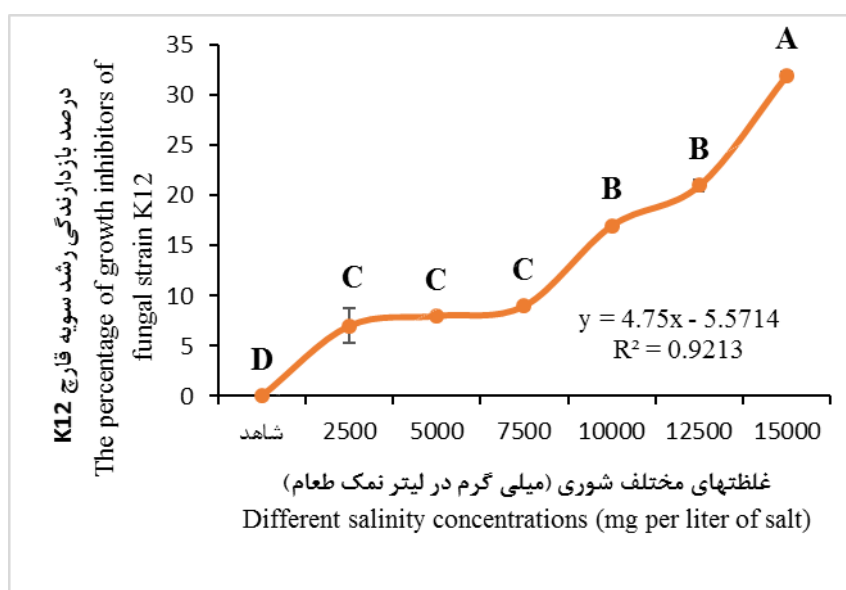
نتایج حاصل از درصد بازدارندگی قارچ N12 در هر غلظت شوری نشان داد که با افزایش شوری، درصد بازدارندگی رشد سویه قارچ N12 افزایش معنی‌داری یافت؛ به طوری که بیش‌ترین درصد بازدارندگی در غلظت ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۲۸ درصد) مشاهده گردید، اگرچه از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با غلظت‌های ۱۰۰۰۰ و ۱۲۵۰۰ نداشت و کم‌ترین میزان آن نیز در تیمار شاهد (۰) مشاهده گردید (شکل ۳).



شکل ۳- درصد بازدارندگی رشد سویه قارچ N12 تحت غلظت‌های مختلف شوری (*Aspergillus niger*).

Fig. 3. Percentage of growth inhibition of fungal strain N12 under different salinity concentrations (*Aspergillus niger*).

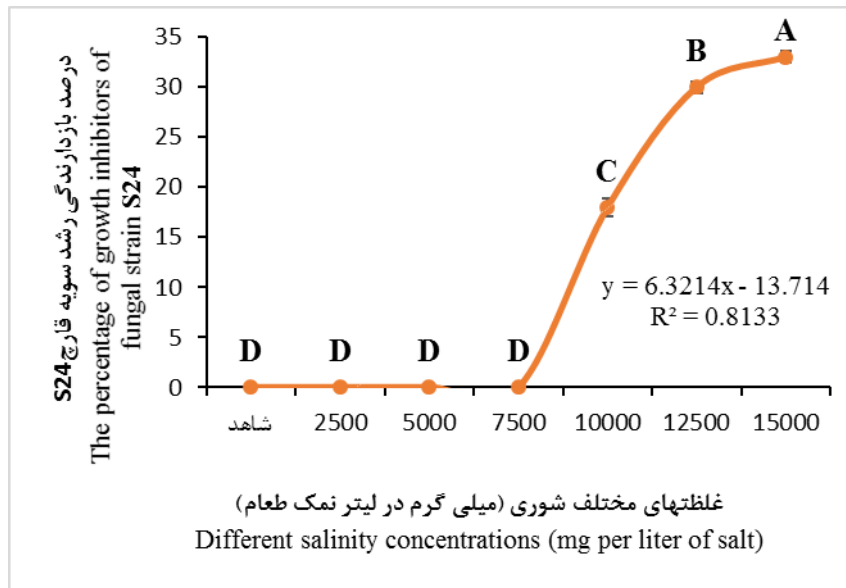
نتایج حاصل از درصد بازدارندگی قارچ K12 در هر غلظت شوری نشان داد که با افزایش شوری، درصد بازدارندگی رشد سویه قارچ K12 افزایش معنی‌داری یافت؛ به طوری که بیش‌ترین درصد بازدارندگی در غلظت ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۳۲ درصد) و کم‌ترین میزان آن نیز در تیمار شاهد (۰) مشاهده گردید (شکل ۴).



شکل ۴- درصد بازدارندگی رشد سویه قارچ K12 تحت غلظت‌های مختلف شوری (*Pencillium chrysoyenum*).

Fig. 4. Percentage of growth inhibition of fungal strain K12 under different salinity concentrations (*Pencillium chrysoyenum*).

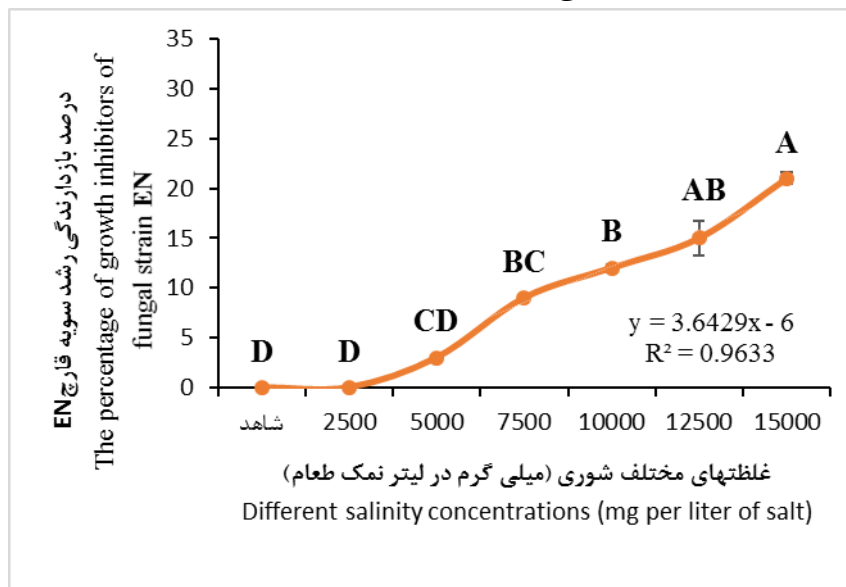
نتایج حاصل از درصد بازدارندگی قارچ S24 در هر غلظت شوری نشان داد که با افزایش شوری تا ۷۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر درصد بازدارندگی رشد سویه قارچ S24 تغییری نکرد و سپس با افزایش شوری از ۷۵۰۰ تا ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر درصد بازدارندگی قارچ S24 افزایش معنی‌داری یافت؛ به طوری که بیش‌ترین درصد بازدارندگی در غلظت ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۳۳ درصد) مشاهده گردید (شکل ۵).



شکل ۵- درصد بازدارندگی رشد سویه قارچ S24 تحت غلظت‌های مختلف شوری (*Aspergillus tubingensis*).

Fig. 5. Percentage of growth inhibition of fungal strain S24 under different salinity concentrations (*Aspergillus tubingensis*).

نتایج حاصل از درصد بازدارندگی قارچ EN در هر غلظت شوری نشان داد که با افزایش شوری تا ۲۵۰۰ میلی گرم در لیتر درصد بازدارندگی رشد سویه قارچ EN تغییری نکرد و سپس با افزایش شوری از ۵۰۰۰ تا ۱۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر درصد بازدارندگی قارچ EN افزایش معنی داری یافت؛ به طوری که بیشترین درصد بازدارندگی در غلظت ۱۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر (۲۱ درصد) مشاهده گردید؛ اگرچه از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با غلظت ۱۲۵۰۰ نداشت (شکل ۶).



شکل ۶- درصد بازدارندگی رشد سویه قارچ EN تحت غلظت‌های مختلف شوری (*Fusarium solani*).

Fig. 6. Percentage of growth inhibition of fungal strain EN under different salinity concentrations (*Fusarium solani*).

### باکتری

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با ارزیابی آنزیمی ACC-Deaminase نشان داد که آنزیم ACC-Deaminase تحت تأثیر نوع باکتری در سطح ۱ درصد معنی دار گردید (جدول ۵).

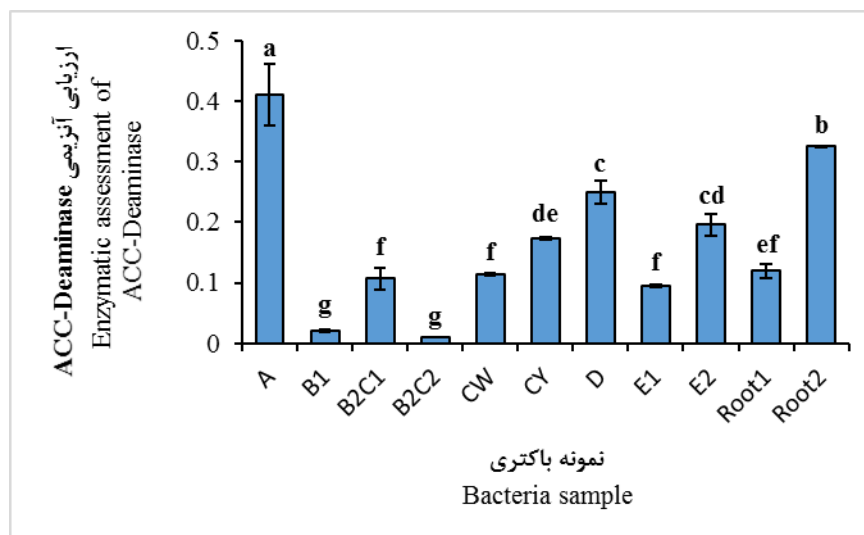
جدول ۵- تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با ارزیابی آنزیمی ACC-Deaminase.

ضریب تغییرات C.V%	ارزش F F.S	میانگین مربعات M.S	مجموع مربعات S.S	درجه آزادی D.F	منبع تغییر S.V
	45/0**	0/046	0/457	10	نمونه باکتری (Bacterial Strain)
19/3	-	0/001	0/022	22	خطا (Error)
	-	-	0/479	32	کل (Total)

\*\* معنی‌دار در سطح ۱ درصد

\*\* Significant at a 1 % level

مقایسه میانگین اثر نوع باکتری بر ارزیابی آنزیمی ACC-Deaminase نشان داد که بیش‌ترین میزان تولید آنزیم ACC-Deaminase در حضور نمونه (A) *Bacillus pumilus* (۰/۴۱۱) مشاهده گردید (شکل ۷).



شکل ۷- اثر نوع باکتری بر ارزیابی آنزیمی ACC-Deaminase (A: برگ‌های سالم از پاجوش، B: برگ‌های پاجوش با علائم سوختگی، B1: کلون یک، B2: کلون ۲، C: برگ‌های نخل مادری، CW: کلون سفید، CY: کلون زرد درشت، D: برگ‌های پاجوش با لکه‌های قهوه‌ای، E: دم‌برگ‌های نخل مادری، E1: کلون یک، E2: کلون دو، Root1: ریشه کلون یک، Root2: ریشه کلون دو).

Fig. 7. Effect of bacteria on the enzymatic assessment of ACC-Deaminase (A: Offshoot healthy leaves, B: Offshoot leaves with burn symptoms, B1: Clone 1, B2: Clone 2, C: Maternal date palm leaves, CW: clone 'White', CY: Clone 'Coarse Yellow', D: Offshoot leaves with brown spots, E: Maternal date palm petiole, E1: Clone 1, E2: Clone 2, Root1: Clone 1 root, root2: Clone 2 root).

## بحث

یکی از چالش‌های عمده در قرن ۲۱، کشاورزی سازگار با محیط زیست و تولید محصول سالم می‌باشد. استفاده از روش‌های نوین زیستی در کشاورزی از جمله میکروارگانیسم‌ها، باکتری‌های اندوفیت هستند که در ریشه، برگ و دانه گیاهان زندگی می‌کنند. اندوفیتیک بودن میکروارگانیسم‌ها در گیاهان، یک مزیت اکولوژیکی محسوب می‌شود که باعث افزایش رشد و باروری گیاه و بالابردن تحمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی از جمله شوری می‌گردد (Khatiry et al., 2013).

اخیراً درخت خرما به دلیل فعالیت‌های انسانی از تجمع بیش از حد نمک در خاک رنج می‌برد. در نخل خرما مکانیسم تحمل به شوری ناشناخته است و نقش باکتری‌های اندوفیت نیز ناشناخته است. در این مقاله به بررسی نقش بخشی از

سویه‌های قارچ و باکتریایی اندوفیت در نخل خرما در تحمل به شوری پرداخته شد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده باکتری‌های *Bacillus pumilus* و *Bacillus safensis* شناسایی شده در این مطالعه قادر به تولید ACC دامیناز بودند که می‌تواند بخشی از ACC تولید شده در نتیجه تنش شوری را بشکند و در نتیجه میزان هورمون استرس را کاهش دهد. همچنین اتیلن اغلب در گیاهان به دلیل طیف گسترده‌ای از تنش‌های غیرزیستی، از جمله شوری بالا، بیش از حد تولید می‌شود. با کاهش سطح اتیلن، وجود ACC دامیناز می‌تواند پیامدهای منفی اتیلن بر رشد و نمو گیاه را کاهش دهد و تحمل گیاه را به شوری افزایش دهد (Gamalero et al., 2020).

برخی از مطالعات نشان داده‌اند که هالوفیت‌ها شامل سویه‌های باسیلوس سوبتیلیس، بروی باکتریوم هالوتولرانس، آکروموباکتر *xylosoxidans* *Brachy bacterium saurashtrense* sp. و *Pseudomonas* sp. که باکتری‌های محرک رشد نیز هستند IAA تولید می‌کنند (Sgroj et al., 2009). در گیاهان، سیگنال‌دهی اکسین و حرکت قطبی نقش مهمی در سازمان‌دهی مجدد ریشه و مکانیسم‌های سازگاری در پاسخ به شوری دارند (Yaish et al., 2015). بسته به گیاه و شرایط، تولید اضافی IAA پتانسیل افزایش رشد گیاهان میزبان را دارد.

با بررسی توانایی رشد ۳۶ سویه قارچ در شرایط شوری با غلظت‌های مختلف، ۴ سویه قارچ (*Aspergillus* S24: *Aspergillus tubingensis*، *Pencillium chrysoyenum* N12: *Fusarium solani* EN:K12) میانگین رشد مسیلیوم بالاتر و درصد بازدارندگی کمتری را نشان دادند. کاربرد PGPF<sup>۱</sup>‌ها یکی از موثرترین استراتژی‌ها برای مدیریت بیماری‌های گیاهی و افزایش مقاومت دفاعی در شرایط تنش‌های زیستی و غیر زیستی توصیه می‌شود. Murali و همکاران (۲۰۲۱) در پژوهشی با عنوان غربالگری زیستی قارچ‌های ریزوسفر (نقش و اهمیت آنها در کشاورزی) بیان کردند که گونه‌های PGPF در شرایط تنش (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Talaromuces*, *Trichoderma*, *Phyophthora*, *Pencillium*, *Rhizoctonia*, *Gliocladium*, *Phoma*) سبب ایمنی ذاتی گیاه، افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و سبب کاهش تولید اتیلن از طریق تولید ACC deaminase می‌شوند (Murali et al., 2021). اما با توجه به اثبات پوسیدگی ریشه خرما در اثر قارچ *Fusarium solani* پیشنهاد می‌شود برای کاربرد این قارچ در شرایط تنش شوری نخل خرما مطالعات بیشتر و گسترده تری صورت بگیرد (Mansoori, 2003).

## نتیجه‌گیری

در مجموع غربالگری برخی قارچ‌ها و باکتری‌های ارتقا دهنده مقاومت نخل خرما به تنش شوری نشان داد که باکتری *Bacillus pumilus* از باکتری‌های همزیست با برگ سالم پاجوش نخل خرما رقم استعمران با تولید بالاترین میزان آنزیم ACC-Deaminase در شرایط تنش شوری از بین سویه‌های غربالگری شده از ریشه و برگ نخل خرما به‌عنوان سویه منتخب باکتریایی (در این پژوهش) توصیه می‌گردد. غربالگری قارچ‌ها نشان داد که بالاترین رشد مسیلیوم و مقاومت به تنش شوری در سویه‌های *Aspergillus tubingensis* S24: *Aspergillus niger* N12: *Pencillium chrysoyenum* K12: مشاهده شد. این ویژگی‌ها 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 به‌کارگیری این عوامل بیولوژیکی، تحمل نخل به تنش شوری را افزایش داد.

## References

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265-7.
- Alhammadi, M.S., & Kurup, S. S. (2012). Impact of salinity stress on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) a review, *crop production technologies*. In: P. Sharma (Ed.) *InTech*, 169–173.
- Ali Houri, M. (2016). Problems and challenges of increasing water productivity in palm trees of Iran. *Promotional scientific publication of research findings in agricultural and garden plants*, 6(2), 97-110. (In Persian)

## منابع

- Bhore, S.J., Ravichantar, N & Loh. C. Y. (2010). Screening of endophytic bacteria isolated from leaves of Sambung Nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] for cytokinin-like compounds. *Bioinformation*, 5, 191 p. DOI: [10.6026/97320630005191](https://doi.org/10.6026/97320630005191).
- 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., Beemelmans, C., & Gunde-Cimerman, N. (2021). Genome reduction and relaxed selection is associated with the transition to symbiosis in the basidiomycete genus *Podaxis*. *iScience*, 24(6), 102680. DOI: [10.1016/j.isci.2021.102680](https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102680).
- El Kinany, S., El Hilali, R., & Achbani, E. (2022). Enhancement of Date Palm Growth Through The Use of Organic Fertilizer and Microbial Agents. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22, 1468-1477. DOI: [10.1007/s42729-021-00746-z](https://doi.org/10.1007/s42729-021-00746-z).
- Elbouthahiri, N.I., Thami-Alami, E., Zaïd, S., & Udupa, M. (2009). Genotypic characterization of indigenous *Sinorhizobium meliloti* and *Rhizobium sultae* by rep-PCR, RAPD and ARDRA analyses. *African Journal of Biotechnology*, 8(6), 979-985.
- El-Esawi, M.A., Sinha, R. P., Chauhan, D.K., Tripathi, D. K., & Pathak, J. (2020). Role of ionomics in *Omics Analysis of plant under Abiotic Stress*, 35, 835-860. DOI: [10.1016/B978-0-12-818204-8.00038-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00038-2)
- Gamalero, E., Farale, N., Bona, E., & Novelb, G. (2020). Able to promote Plant Growth and Increase Salinity Tolerance. *Applied Sciences*, 10(17), 5767. <https://doi.org/10.3390/app10175767>. *Appl. Sci.* 2020.10.5767.
- Gupta, S.H. & Pandey, S. (2019). ACC Deaminase Producing Bacteria With Multifarious Plant Growth Promoting Traits Alleviates Salinity Stress in French Bean (*Phaseolus Vulgaris*) Plants. *Front Microbiol*, 9(10), 1506. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01506>.
- Indeiragandhi, P., Anandham, R., Madahiyan, M., & Sa, T. M. (2008). Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Curr Microbiol*, 56(4), 327-333. DOI: [10.1007/s00284-007-9086-4](https://doi.org/10.1007/s00284-007-9086-4).
- Khatiri, Y., Bahador, N & Pordeli, H. R. (2013). Study of endophytic bacteria isolated from soybean plant and their role in controlling some plant pathogenic fungi. *Biology of Microorganisms*, 2(5), 51-60. (In Persian)
- Kumar, A., Singh, S., Kumar, G., Srivastara, S., & Prakash Verma, J. (2020). Plant Growth-Promoting Bacteria: Biotechnological Tools For The Mitigation of Salinity Stress. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1216. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01216>.
- Mansoor, B. (2003). Date root rot caused by fungi (*Fusarium Solani*). *Plant Diseases*, 39(3-4), 229-229. <https://sid.ir/paper/45827/fa>.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell & Environment*, 25, 239-250.
- Murali, M., Naziya, B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Alyaha, S., Almatroudi, A., Thriveni, M. C., Gowtham H. G., Singh, S. B., Aiyaz, M. et al. (2021). Bioprospecting of Rhizosphere-Resident Fungi: Their Role and Importance in Sustainable Agriculture. *Journal Of Fungi*, 7(4), 314. <https://doi.org/10.3390/jof7040314>.
- Ouili, A., Maiga, Y., Zida, E., Ouoba, A., Nandkangre, A., Compaore, O., Nikiema, M., Ouedraogo, M & Ouattara, A. (2022). Isolation and Characterization of Fungal Strains from the seeds of Bambara groundnut (*Vigna Subterranea* L.) Vera court) produces in Burkina Faso. *African Journal of Food Science*, 16(5), 107-115. E11051F69143. Doi: 10.5897/AJFS2022.2168.
- Eleg, Z., Apse, M. P., & Blumwald, E. (2011). Engineering salinity and water-stress tolerance in crop plants: getting closer to the field. *Advances in Botanical Research*, 57, 405-443. DOI: [10.1016/B978-0-12-387692-8.00012-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387692-8.00012-6)
- Prakash Singh, R., Ma, Y & Shadan, A (2022). Perspective of ACC-Deaminase Producing Bacteria In stress Agriculture. *Journal of Biotechnol*, 352, 36-46. DOI: [10.1016/j.jbiotec.2022.05.002](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.05.002).
- Rashid, S., Charles, T.C., & Glick, B.R. (2012). Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. *Applied Soil Ecology*, 61, 217-224. DOI: [10.1016/j.apsoil.2011.09.011](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.09.011)
- Sgroy, V., Cassan, F., Masciarelli, O., Florencia Del Papa, M., Lagares, A., & Luna, V. (2009). Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(2), 371-81. DoI 10.1007/s00253-009-2116-3.
- Suenaga, E., & Nakamura, H. (2005). Evaluation of three methods for effective extraction of DNA from human hair. *Journal of Chromatography*, 820(1), 137-141. DOI: [10.1016/j.jchromb.2004.11.028](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.11.028).
- Tarahi, A., Amani, M., Mohebi, A.M., & Ali Hourri, M. (2016). Technical guide for planting, growing and harvesting dates. *Agriculture Research*, 282 p. (In Persian)
- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., & Guo, S. (2013). The critical role of potassium in plant stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 7370-7390. doi: 10.3390/ijms14047370. PMID: 23549270; PMCID: PMC3645691.
- Yaish, M., Antony, I., & Glick, R. (2015). Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting bacteria from date palm and their potential role in salinity tolerance. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107, 1519-1532. <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0445-z>.

## Screening of Some Fungi and Bacteria Improving Date Palm Resistance to Salinity Stress

**Bitā Sadeghi<sup>1</sup>, Vahid Abdossi<sup>1\*</sup>, Vahid Zarrinnia<sup>2</sup>, Nader Hasanzade<sup>2</sup>**

1. Department of Horticultural Science and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Plant Protection, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\*Corresponding author, Email: (abdossi@yahoo.com)

Soil and water salinity is one of the serious and developing problems in the world, and large areas of the country's land are also facing this problem. The use of fungal and bacterial microorganisms, which are considered the most important soil microorganisms, has become a global solution to reduce environmental stresses such as salinity. Therefore, in order to investigate the effect of fungi and bacteria improve the resistance of date palms to salt stress, an experiment was conducted in Shadgan city in Khuzestan province. In order to screen salt-resistant fungal strains, 36 strains fungi isolated from the date palm rhizosphere zone were cultured in concentrations of zero, 2500, 5000, 7500, 10000, 12500, 15000 mg/liter of sodium salt. The average diameter growth and inhibition percentage showed that the lowest inhibition percentage due to salt salinity was observed in *Fusarium solani*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus tubingensis*. The use of salinity-resistant fungus in the form of elicitors is recommended under salinity stress conditions. However, considering the role of *Fusarium solani* fungus in Date root rot disease, the application of this fungus needs more extensive studies. Biological screening of bacteria the ACC-Deaminase production evaluation method showed that *Bacillus Pumilus* and *Bacillus safensis* bacteria have the ability to produce more enzymes. This enzyme breaks the precursor of ethylene production under stress conditions and prevents the production of ethylene which is produced under stress conditions.

**Keywords:** Date Palm, Bacteria, Inhibition percentage, Fungus.