



ISSN: 2676-7309



Lorestan University

From Cellular Preparedness to Intelligent Response: Molecular Mechanisms Underlying the Differential Tolerance of Date Palm Cultivars to Leaf Drying Disorder

Fatemeh Azizollahi | Mousa Mousavi*

Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

*Corresponding author ✉: m.mousavi@scu.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: August 28, 2025;
Received in revised form: December 11, 2025;
Accepted: December 19, 2025;
Available online: December 30, 2025

Keywords:
Gene expression,
Biotic stress,
Abiotic stress,
Leaf drying disorder,
Date palm

ABSTRACT

In recent years, leaf drying disorder has emerged as a major threat to date palm (*Phoenix dactylifera* L.) production in Iran's arid and semi-arid regions. Despite its economic significance, the molecular mechanisms underlying this condition remain poorly understood. This study aimed to investigate the expression patterns of seven key stress-responsive genes (*OSCA1*, *FERONIA*, *FLS2*, *CERK1*, *HKT*, *UVR8*, and *COLD1*) in three date palm cultivars (Estamaran, Barhi, and Hallawi) exhibiting contrasting phenotypes: with and without leaf drying symptoms. Our results reveal a two-phase molecular defense strategy in tolerant cultivars (Estamaran and Hallawi). Under non-stress conditions, these cultivars exhibited significantly higher basal expression of *OSCA1*, *FLS2*, and *HKT*, suggesting a state of "pre-emptive defense priming" that likely enhances readiness against osmotic and salinity stresses. Conversely, upon symptom development, tolerant cultivars showed marked upregulation of *FERONIA* and *CERK1*, indicating an intelligent, pathogen-responsive immune activation, potentially against fungal agents implicated in the disorder. In contrast, the susceptible cultivar (Barhi) displayed dysregulated expression: elevated *UVR8* and *COLD1* levels correlated with accelerated leaf senescence and water loss, while reduced *OSCA1* and *HKT* expression was associated with impaired ion homeostasis. Collectively, our findings demonstrate that tolerance to leaf drying is not governed by a single gene but by a coordinated, multi-stage defense system involving both pre-stress preparedness and stress-responsive immunity. These results provide a foundational framework for developing molecular markers and cultivar-specific breeding strategies to mitigate this emerging threat in date palm cultivation.



Cite this article: Azizollahi, F. and Mousavi, M. (2025). From cellular preparedness to intelligent response: molecular mechanisms underlying the differential tolerance of date palm cultivars to leaf drying disorder. *Plant Genetic Research*, 12(2): 89–100.

DOI: <https://doi.org/10.22034/pgr.2025.2070113.1015>



© Author(s) retain the copyright.

Homepage: <https://www.pgr.lu.ac.ir> | Publisher: Lorestan University

Introduction

In recent years, leaf drying disorder has emerged as a major threat to date palm (*Phoenix dactylifera* L.) production in Iran's arid and semi-arid regions. Despite its economic significance, the molecular mechanisms underlying this condition remain poorly understood. This study aimed to investigate the expression patterns of seven key stress-responsive genes (*OSCA1*, *FERONIA*, *FLS2*, *CERK1*, *HKT*, *UVR8*, and *COLD*) in three date palm cultivars (Estamaran, Barhi, and Hallawi) exhibiting contrasting phenotypes: with and without leaf drying symptoms.

Materials and Methods

Leaf samples were collected from healthy and symptomatic trees of the three cultivars, Estamaran (Sayer), Hallawi and Barhi with three replications. Total RNA was extracted using GeneAll® Ribospin™ Plant, qualified by agarose gel electrophoresis and NanoDrop, then cDNA was synthesized using Thermo Science Revert/Aid First Strand cDNA Synthesis kit Fermentas (Thermo Fisher Scientific, Lithuania). The quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR) analysis was done with Step One Plus Real-Time PCR (Applied Biosystems) using SYBR Green Master Mix (Ampliqon). Gene-specific primers were designed, and expression levels were normalized using the 18S rRNA gene as an internal control. Data were analyzed using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method, and statistical significance was assessed using ANOVA followed by Duncan's multiple range test at a 5% significance level.

Results and Discussion

The expression patterns of the studied genes varied significantly among cultivars and between symptomatic and asymptomatic samples. The *OSCA1* gene, which encodes an osmosensory calcium channel, showed the highest expression in the symptom-free Estamaran cultivar and the lowest in the symptomatic Barhi cultivar. This suggests that *OSCA1* plays a critical role in osmotic stress tolerance, with its expression decreasing under stress conditions in all three tested cultivars. The *FERONIA* gene, a member of the Receptor-Like Kinase (RLK) family, exhibited the highest expression in the symptomatic Estamaran cultivar, indicating its potential role in stress response and immunity. The *FLS* gene, involved in bacterial flagellin perception, showed the highest expression in the symptom-free Hallawi cultivar, significantly higher than in other samples. This suggests that *FLS* may contribute to disease resistance in healthy plants. The *CERK1* gene, which responds to chitin and bacterial peptidoglycan, displayed the lowest expression in the symptom-free Hallawi cultivar and the highest in the symptomatic Hallawi cultivar. The *HKT* gene, responsible for sensing of environmental signals in response to biotic and abiotic stresses, also showed the highest expression in the symptom-free Hallawi cultivar. Our results reveal a two-phase molecular defense strategy in tolerant cultivars (Estamaran and Hallawi). Under non-stress conditions, these cultivars exhibited significantly higher basal expression of *OSCA1*, *FLS2*, and *HKT*, suggesting a state of "pre-emptive defense priming" that likely enhances readiness against osmotic and salinity stresses. Conversely, upon symptom development, tolerant cultivars showed marked upregulation of *FERONIA* and *CERK1*, indicating an intelligent, pathogen-responsive immune activation, potentially against fungal agents implicated in the disorder. In contrast, the susceptible cultivar (Barhi) displayed dysregulated expression: elevated *UVR8* level correlated with accelerated leaf senescence and water loss, while reduced *OSCA1* and *HKT* expression was associated with signal transduction.

Conclusions

This study showed that the expression of stress-related genes is closely linked to the leaf drying phenomenon in date palms. Collectively, our findings demonstrate that tolerance to leaf drying is not governed by a single gene but by a coordinated, multi-stage defense system involving both pre-stress preparedness and stress-responsive immunity. These results provide a foundational framework for developing molecular markers and cultivar-specific breeding strategies to mitigate this emerging threat in date palm cultivation. The differential expression of *OSCA1*, *HTK*, *FERONIA*, and other genes suggests their involvement in stress perception and response mechanisms. Future research should focus on the functional characterization of these genes and their interactions in stress responses. Further studies should also explore the role of environmental factors, such as dust particles and climate change, in exacerbating this condition.

Author Contributions

F. Azizollahi: Investigation; Methodology; Writing – original draft. M. Mousavi (corresponding author): Conceptualization; Methodology; Data analysis; Review & editing original draft. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

Data Availability Statement

Data available on request from the authors.

Acknowledgements

This research was supported by Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran (Grant No. SCU.AH98.468) and the Date Palm and Tropical Fruits Research Institute (Grant No. 99.400.260.6). The authors greatly appreciate this support.

Ethical Considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, and plagiarism, and any form of misconduct.

Funding

No funding was received for this study.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

از آمادگی سلولی تا پاسخ هوشمند: سازوکارهای مولکولی تمایز ارقام متحمل و حساس نخل خرما در برابر خشکیدگی برگ

فاطمه عزیزالهی  | موسی موسوی* 

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

در سال‌های اخیر، عارضه خشکیدگی برگ در نخل خرما (*Phoenix dactylifera* L.) به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران، خسارات قابل‌توجهی به باغات وارد کرده است. با این حال، مکانیسم‌های مولکولی دخیل در این پدیده هنوز به‌طور کامل شناخته نشده‌اند. این مطالعه با هدف بررسی الگوی بیان هفت ژن کلیدی مرتبط با پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی (*OSCA1*، *FERONIA*، *FLS2*، *CERK1*، *HTK*، *UVR8* و *COLD1*) در سه رقم نخل خرما (استعمران، برحی و حلاوی) با و بدون علائم خشکیدگی برگ انجام شد. نتایج نشان داد که ارقام متحمل (استعمران و حلاوی) در شرایط عادی، بیان بالاتری از ژن‌های *OSCA1*، *FLS2* و *HTK* دارند که ممکن است نشان‌دهنده یک سیستم «پیش‌فعال‌سازی دفاعی» باشد. در مقابل، در شرایط تنش، بیان ژن‌های *CERK1* و *FERONIA* به‌طور معنی‌داری در ارقام متحمل افزایش یافت که حاکی از فعال‌سازی هوشمندانه سیستم ایمنی است. در رقم حساس (برحی)، کاهش بیان *OSCA1* و *HTK* و افزایش غیرمنظم *UVR8* با ناتوانی در حفظ تعادل یونی و آبی همراه بود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که تحمل به خشکیدگی برگ نتیجه یک سیستم دفاعی چندمرحله‌ای و مختص رقم است که در آن هماهنگی بین پاسخ‌های پیش از تنش و در حین تنش نقش کلیدی ایفا می‌کند.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۹/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۱۰/۰۹

واژگان کلیدی:

بیان ژن،

تنش زیستی،

تنش غیرزیستی،

خشکیدگی برگ،

نخل خرما

مقدمه

سلولی در برابر تنش‌های آینده مطرح شده است (Conrath *et al.*, 2015; Mauch-Mani *et al.*, 2017; Zeynivand *et al.*, 2025). مطالعات اخیر در گیاهان چندساله مانند انگور نشان داده‌اند که پیش‌فعال‌سازی دفاعی وابستگی مستقیمی به نوع رقم دارد (Castro *et al.*, 2023). در نخل خرما نیز، شواهدی از وجود این پدیده وجود دارد (Outamamat *et al.*, 2021). اما ارتباط آن با الگوی بیان ژن‌های خاص در ارقام متحمل و حساس هنوز بررسی نشده است. در این مطالعه، هفت ژن کلیدی شامل: *CERK1*، *FLS2*، *FERONIA*، *OSCA1*، *HTK*، *UVR8* و *COLD* که نقش آن‌ها در پاسخ به تنش‌های مختلف در سایر گیاهان شناخته شده است، مورد بررسی قرار گرفتند. شواهدی از نقش ژن‌های *OSCA1* و *HTK* در پاسخ به تنش‌های اسمزی و شوری (Li *et al.*, 2023)، *FERONIA* و *CERK1* در پاسخ ایمنی به بیمارگرا (Giovannoni *et al.*, 2021; Yu *et al.*, 2022)، *UVR8* در پاسخ به تابش فرابنفش و *COLD1* در پاسخ به تنش دمای پایین (Ma *et al.*, 2015; Jenkins, 2017) گزارش شده است.

با توجه به شواهد موجود، فرضیه‌ای مبنی بر اینکه ارقام نخل خرما با علائم خشکیدگی برگ، الگوی بیان متفاوتی در ژن‌های مرتبط با پاسخ به تنش نسبت به ارقام بدون علائم نشان می‌دهند، مطرح شد. این تفاوت‌ها می‌تواند نشان‌دهنده مکانیسم‌های مولکولی متفاوت در تحمل یا حساسیت به این عارضه باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در پژوهش حاضر از نخلستان تحقیقاتی پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری در اردیبهشت ماه ۱۴۰۱ صورت گرفت. آزمایش و نمونه‌برداری مبتنی بر آن به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (فاکتور اول شامل رقم در سه سطح رقم (استعمران، برحی و حلاوی) و فاکتور دوم شامل وضعیت مقاومت به خشکیدگی در دو سطح (حساس یا مقاوم) با سه تکرار انجام شد. نمونه برداری از نخل‌های ردیف وسط باغ به فاصله برابر با ۸ متر، صورت گرفت. نمونه‌ها شامل برگچه‌های بالغ مربوط به قسمت میانی تاج سه رقم نخل خرما (استعمران، برحی و حلاوی) که دارای علائم خشکیدگی برگ و همچنین برگ‌های سبز و فعال بودند. پس از علامت‌گذاری، نمونه‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شدند و سپس به آزمایشگاه کشت بافت و

نخل خرما (*Phoenix dactylifera* L.) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی و از مهم‌ترین منابع غذایی در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان است. ایران یکی از بزرگترین تولیدکنندگان خرما در جهان است. بر اساس آمارهای سال ۲۰۲۳، ایران حدود ۱۰۲۴۱۱۶ تن خرما تولید می‌کند (https://www.fao.org). با این حال، تولید خرما در سال‌های اخیر با چالش‌های متعددی از جمله عارضه خشکیدگی برگ مواجه شده است که خسارات قابل‌توجهی به باغات وارد کرده است (Ghaedi *et al.*, 2020). این عارضه به صورت زرد شدن، نکروز و خشک شدن تدریجی برگچه‌ها ظاهر می‌شود و معمولاً در ارقام مختلف با شدت متفاوتی دیده می‌شود (Amani, 2015). شواهد موجود نشان می‌دهد که این عارضه ناشی از یک عامل واحد نیست، بلکه نتیجه‌ی ترکیبی از تنش‌های زیستی (مانند قارچ‌های *Fusarium proliferatum* و *Neofusicoccum mangiferae*) و غیرزیستی (مانند شوری، خشکی و تابش فرابنفش) است (Amani, 2015; Ghaedi *et al.*, 2020; Najafi Nia and Azadvar, 2009).

در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی به بررسی پاسخ مولکولی نخل خرما به تنش‌های محیطی پرداخته‌اند. مطالعه یایش و همکاران (Yaish *et al.*, 2015) نشان داد که تجمع پرولین در نخل خرما یک پاسخ عمومی به تنش‌های غیرزیستی است. هزوری و همکاران (Hazzouri *et al.*, 2020) نیز با بررسی ژنوم نخل خرما، ژن‌های کاندیدای متعددی را برای تحمل به شوری شناسایی کردند. فرانزیسکی و همکاران (Franzisky *et al.*, 2025) در مطالعه‌ای جامع، نشان دادند که نخل خرما در مراحل اولیه خشکی، از طریق تنظیم اسمزی در ریشه و محافظت از برگ در برابر آسیب اکسیداتیو، به تنش پاسخ می‌دهد. با این حال، اکثر مطالعات موجود بر پاسخ به یک تنش منفرد متمرکز بوده‌اند و کمتر به بررسی پاسخ به ترکیب تنش‌های زیستی و غیرزیستی، همان‌گونه که در شرایط طبیعی رخ می‌دهد، پرداخته شده است. علاوه بر این، مکانیسم‌های مولکولی دخیل در تمایز ارقام متحمل و حساس به عارضه خشکیدگی برگ هنوز به‌طور کامل شناخته نشده‌اند.

در گیاهان دیگر، مفهوم «پیش‌فعال‌سازی دفاعی» (Defense priming) به‌عنوان یک رهیافت هوشمند برای افزایش آمادگی

واکنش qRT-PCR با سیستم Step One Plus Real-Time SYBR Green (Applied Biosystems) و با استفاده از Master Mix (Ampliqon) انجام شد. برنامه دمایی شامل: ۶۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به منظور واسرشت‌سازی اولیه و ۴۰ تکرار با چرخه‌های ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد جهت واسرشت‌سازی، ۶۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد جهت اتصال آغازگرها به الگو (به استثنای آغازگر OSCA1 با دمای اتصال ۶۱ درجه سانتی‌گراد) و ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. هر نمونه با سه تکرار فنی تحلیل شد. در هر واکنش qRT-PCR، یک کنترل منفی بدون آنزیم (Reverse Transcriptase No-RT control) برای هر نمونه اجرا شد که در آن هیچ تکثیری مشاهده نگردید. دمای بهینه‌ی اتصال آغازگرها با نرم‌افزار Primer3 طراحی و با آزمایش‌های گرادیان دمایی (gradient PCR) تأیید شد. برای محصولات تکثیری کوتاه‌تر از ۲۰۰ جفت باز، زمان گسترش ۶۰ ثانیه به منظور همگونی شرایط واکنش برای تمام ژن‌ها و اطمینان از تکمیل واکنش انتخاب گردید.

تحلیل آماری: داده‌های بیان ژن با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Schmittgen, 2001) نرمال‌سازی شدند. برآورد خطای معیار (SEM) و تحلیل واریانس (ANOVA) با نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) انجام شد. تفاوت‌های معنی‌دار بین میانگین‌ها (مقادیر Ct نرمال) با آزمون چنددامنه‌ای دانکن (Duncan) تعیین گردید.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۲) که اثر متقابل رقم \times وضعیت بر بیان تمام ژن‌های مورد مطالعه معنی‌دار بود. همچنین، اثر اصلی وضعیت (وجود یا عدم وجود عارضه‌ی خشکیدگی) بر بیان ژن‌های *OSCA1*، *HTK*، *FERONIA*، *CERK1*، *FLS2* و *UVR8* معنی‌دار بود ($p < 0.05$). اثر اصلی رقم نیز بر بیان ژن‌های *OSCA1*، *HTK*، *FLS2*، *UVR8* و *COLD1* معنی‌دار بود ($p < 0.05$). این یافته‌ها تأیید می‌کنند که الگوی بیان ژن‌ها نه تنها به وجود عارضه‌ی خشکیدگی، بلکه به تعامل رقم و وضعیت عارضه‌ی خشکیدگی بستگی دارد. ضریب تغییرات (CV) بر حسب درصد) برای ژن‌های مختلف بین ۵/۰۴ درصد (*COLD1*) تا ۱۲/۴۴ درصد (*OSCA1* و *FLS2*) متغیر بود که نشان‌دهنده پایداری مناسب داده‌هاست (جدول ۲).

بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال یافتند. از لحاظ عارضه خشکیدگی برگ، بر اساس سیستم امتیازدهی ابدالا و همکاران (Abdalla et al., 2000) نمونه‌ها به دو گروه «بدون عارضه‌ی خشکیدگی» و «دارای عارضه‌ی خشکیدگی» تقسیم شدند. بر مبنای گزارش‌های پیشین، عارضه‌ی خشکیدگی برگ ناشی از ترکیبی از تنش‌های زیستی (قارچ‌های *Fusarium proliferatum* و *Nattrassia mangiferae*) و غیرزیستی (شوری خاک ≤ 8 dS/m و تابش UV-B بالا) تشخیص داده شده است (Ghaedi et al., 2020; Najafi Nia and Azadvar, 2009).

استخراج RNA: استخراج RNA از نمونه‌های برگ پودر شده در نیتروژن مایع با استفاده از کیت (Cat No. 307-150) GeneAll® Ribospin™ Plant طبق شیوه‌نامه شرکت سازنده انجام شد. پس از انجام دقیق مراحل استخراج، نمونه‌ها با استفاده از ستون همراه کیت و با اضافه نمودن ۳۰ میکرولیتر آب Nuclease-free به ستون جمع‌آوری گردید. RNA استخراج‌شده در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. بررسی کمیت و کیفیت RNA استخراج شده: غلظت و خلوص RNA در تمامی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه نانودراپ (NanoDrop) تعیین شد. نسبت جذب در طول موج‌های ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر بین ۱/۹ تا ۲/۱ بود که نشان‌دهنده خلوص مناسب RNA بود. همچنین، کیفیت RNA با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد تأیید گردید.

سنتز cDNA: سنتز cDNA با استفاده از روش پیشنهادی شرکت فرمتاز (RevertAid First Strand cDNA Synthesis) انجام شد. برای این کار از ۲ میکرولیتر RNA با غلظت ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر و با استفاده از آغازگر Oligo(dT)، آب RNase-free و به واسطه آنزیم Reverse Transcriptase سنتز صورت گرفت. cDNA سنتز شده در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

طراحی آغازگر و واکنش qRT-PCR: آغازگرهای اختصاصی برای ژن مرجع ۱۸S rRNA و هفت ژن هدف، *FERONIA*، *OSCA1*، *FLS2*، *UVR8*، *HKT*، *CERK1* و *COLD1* با استفاده از نرم‌افزار Primer3 (نسخه ۰/۴/۰) طراحی شدند (جدول ۱). اعتبارسنجی ژن مرجع بر اساس مطالعه‌ی پانکر و همکاران (Patankar et al., 2016) انجام شد که نشان داد که ژن ۱۸S rRNA در شرایط تنش در نخل خرما بیان پایداری دارد.

جدول ۱- آغازگرهای اولیگو نوکلئوتید به کار رفته جهت تعیین سطح بیان ژن‌های دخیل در دریافت تنش‌های زیستی و غیرزیستی در نمونه‌های برگي نخل خرما

Table 1. Oligonucleotide primer pairs used for expression of genes involve in reception of biotic and abiotic stresses in the leaf sample of date palm

نام	توالی	اندازه محصول	دمای اتصال
آغازگر	آغازگر	(جفت‌باز)	(سانتی‌گراد)
Primer name	Primer sequence	Product length (bp)	Ta °C
<i>UVR8</i> -F	5-TGAGCCATTTCTGTTCACAC-3	130	58
<i>UVR8</i> -R	5-CCTCCCAGTTGGAACACATTC-3		
<i>COLD1</i> -F	5-CCCTTGTCAGATCCTCTTCA-3	123	58
<i>COLD1</i> -R	5-GGTCAATCTCCAGTTGAGCC-3		
<i>HKT1</i> -F	5-AATGAAGCCAGGAAGCAGTTC-3	158	58
<i>HKT1</i> -R	5-AGGTATGCCAGCTGAGAAGAA-3		
<i>FLS2</i> -F	5-CTTCAGGGAGCTAGTGACCTT-3	169	58
<i>FLS2</i> -R	5-CGTCCACCTTGATCGATCATG-3		
<i>CERK1</i> -F	5-AATGTCACCTGTAAGTCTCG-3	159	58
<i>CERK1</i> -R	5-TCCAGGATTATACTCCCGCAG-3		
<i>FERON</i> -F	5-ACCATCCCAACTCTTATGCCT-3	119	58
<i>FERON</i> -R	5-GTCCTCCATGGTGTAGGATGT-3		
<i>18S</i> -F	5-CGAACCACTGCGAAAGCAT-3	134	58
<i>18S</i> -R	5-CCCCAACT TTCGTTCTTGA-3		
<i>Osc1</i> -F	5-GGGGGGCAGCTGTTGTGC-3	163	61
<i>Osc1</i> -R	5-AGGAAGAAAATGCAACAGCCA-3T		

جدول ۲- تجزیه واریانس تغییرات سطح بیان ژن‌های هدف در نمونه‌های سه رقم نخل خرما (برحي، حلاوی و استعمران) دچار عارضه خشکیدگی برگ و سالم

Table 2. Variance analysis of the changes in the expression levels of target genes in three date palm cultivars (Barhee, Halawi, and Estamaran) affected by the disorder and normal samples (According to FC)

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات بیان ژن						
		Mean square of gene expression						
S.O.V	df	<i>OSCA1</i>	<i>FERONIA</i>	<i>COLD1</i>	<i>CERK</i>	<i>FLS</i>	<i>UVR8</i>	<i>HKT</i>
رقم Cultivar	2	4.524***	5.228**	1.815**	2.985**	157.584 ^{ns}	2.1085**	43.855**
وضعیت Situation	1	0.060***	3.621***	0.496**	2.043***	724.821 ^{ns}	1.8920**	125.66***
وضعیت × رقم Cultivar×Situation	2	0.573***	0.415**	0.974***	0.155***	54.002**	3.6920***	21.38***
خطا Error	12	0.00254	0.00870	0.0043	0.0043	0.3984	0.0085	0.1194
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)		12.44	5.13	5.04	10.27	12.44	5.13	5.13

***، ** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی‌دار
 ، * and ^{ns}: Significant ($\alpha=5\%$), highly significant ($\alpha=1\%$), and non-significant, respectively

نتایج نشان داد که بیان ژن *OSCA1* در نمونه‌های بدون عارضه‌ی خشکیدگی به‌طور معنی‌داری بالاتر از نمونه‌های دارای عارضه‌ی خشکیدگی بود ($p < 0.01$). بیشترین میانگین بیان در رقم متحمل استعمران بدون عارضه‌ی خشکیدگی مشاهده شد (شکل ۱)، در حالی که کم‌ترین مقدار در رقم حساس برحی دارای عارضه‌ی خشکیدگی ثبت گردید. اثر متقابل رقم \times وضعیت نیز معنی‌دار بود ($p < 0.01$)، که نشان‌دهنده الگوی پاسخ اختصاصی رقم است. این یافته با نتایج مطالعات لی و همکاران (Li et al., 2023) و کائو و همکاران (Cao et al., 2020) همخوانی دارد که در آن‌ها بر نقش *OSCA1* را در پاسخ به تنش اسمزی و حفظ تعادل آبی گیاه تأکید شده است. کاهش شدید بیان این ژن در نمونه‌های دارای عارضه‌ی خشکیدگی ممکن است نشان‌دهنده ناتوانی در القای پاسخ‌های پیش‌فعال‌سازی دفاعی باشد.

بیشترین بیان ژن *CERK1* را در شناسایی کیتین قارچ‌ها تأیید کرده‌اند، همخوانی دارد. بیشترین بیان *FLS2* در حلاوی بدون عارضه‌ی خشکیدگی مشاهده شد (شکل ۱) که به‌طور معنی‌داری از سایر نمونه‌ها بیشتر بود ($p < 0.01$). این یافته نشان می‌دهد که *FLS2* ممکن است در شرایط سالم، به‌عنوان بخشی از سیستم پیش‌فعال‌سازی دفاعی عمل کند. این نتیجه با مطالعات زوو و همکاران (Zou et al., 2018) که نقش *FLS2* را در توسعه ایمنی ذاتی گیاه تأیید کرده‌اند، همخوانی دارد.

بیان ژن *UVR8* در رقم حساس برحی بدون علائم عارضه‌ی خشکیدگی (شکل ۱) به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر نمونه‌ها بود ($p < 0.01$). الگوی بیان این ژن ظاهراً ارتباط زیادی با عارضه‌ی خشکیدگی برگ در ارقام مورد مطالعه نخل خرما ندارد. بیان بالای این ژن بیانگر القای تنش اکسیداتیو ناشی از آسیب نوری می‌باشد. این یافته با مطالعات جنکینز (Jenkins, 2017) و کیم و همکاران (Kim et al., 2020) که ارتباط *UVR8* را با پیری برگ تحت تنش فرابنفش تأیید کرده‌اند، می‌تواند همخوانی داشته باشد.

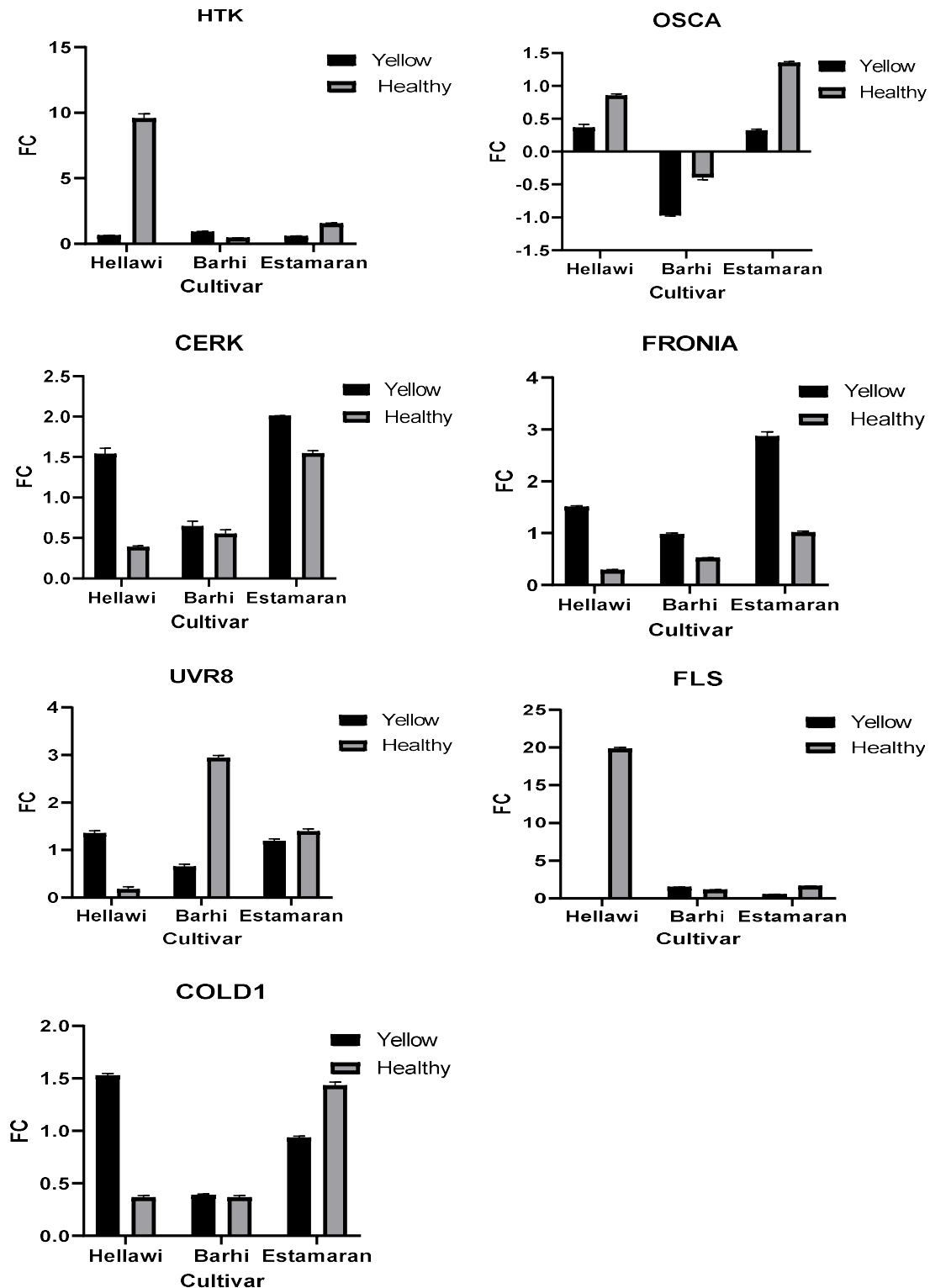
بیشترین بیان *FLS* در حلاوی بدون علائم عارضه‌ی خشکیدگی مشاهده شد (شکل ۱). میزان بیان این ژن در رقم متحمل استعمران در حالت سالم نیز بیشتر بود، اما بیان این ژن در رقم حساس برحی برعکس بوده و در حالت مشاهده علائم زردی میزان بیان بیشتر بود. کاهش بیان این ژن می‌تواند با اختلال در دریافت پیام تنش منجر شده در نتیجه باعث ضعف سیستم ایمنی و افزایش حساسیت به بیمارگرها گردد. همچنین باعث تأخیر در ترمیم بافت آسیب دیده شده و ممکن است تعادل بین جاسمونیک اسید و سالیسیلیک اسید را بر هم زند که نتیجه آن ایجاد تنش اکسیداتیو و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول خواهد بود (Gomez-Gomez and Boller, 2000; Tsuda et al., 2009; Tanaka et al., 2021).

الگوی بیان ژن *COLD1* در ارقام متحمل و رقم حساس از روند منظمی برخوردار نبود به‌طوری که بیشترین میزان بیان این ژن در حلاوی دارای علائم خشکیدگی و استعمران بدون علائم ملاحظه گردید درحالی که بیان این ژن در رقم حساس برحی دارای علائم خشکیدگی و بدون علائم خشکیدگی تقریباً مشابه بود (شکل ۱).

بیشترین بیان ژن *HTK* در رقم حلاوی بدون عارضه‌ی خشکیدگی و کم‌ترین مقدار در برحی بدون عارضه‌ی خشکیدگی مشاهده شد. اثر متقابل رقم \times وضعیت در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (شکل ۱). این یافته با نقش شناخته‌شده‌ی *HTK* در انتقال یون‌های Na^+/K^+ و تحمل به شوری (Gu et al., 2023) همخوانی دارد. کاهش شدید بیان این ژن در نمونه‌های دارای عارضه‌ی خشکیدگی می‌تواند منجر به تجمع Na^+ در بافت‌های برگ و القای نکروز شود.

ژن *FERONIA* در نمونه‌های ارقام دارای عارضه‌ی خشکیدگی بیان بالاتری داشت. بیشترین مقدار در رقم استعمران دارای عارضه‌ی خشکیدگی (شکل ۱) مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری از سایر نمونه‌ها بیشتر بود ($p < 0.01$). این الگو با نقش *FERONIA* در پاسخ ایمنی به بیمارگرهای قارچی (Duan et al., 2021; Giovannoni et al., 2022) همخوانی دارد. افزایش بیان این ژن در زمان تنش می‌تواند نشان‌دهنده فعال‌سازی هوشمندانه سیستم ایمنی در ارقام متحمل باشد.

بیان ژن *CERK1* نیز در نمونه‌های دارای عارضه‌ی خشکیدگی در ارقام متحمل افزایش بیشتری یافت. بیشترین مقدار در رقم استعمران دارای عارضه‌ی خشکیدگی و کم‌ترین مقدار در رقم حلاوی بدون عارضه‌ی خشکیدگی ثبت شد (شکل ۱). این یافته با مطالعات لی و همکاران (Li et al., 2023) و گیوانونی و همکاران (Giovannoni et al., 2014) همخوانی دارد.



شکل ۱- مقایسه اثر متقابل رقم × وضعیت (با و بدون علائم عرضه خشکیدگی برگ) بر بیان ژن‌های کدکننده گیرنده‌های تنش زیستی و غیرزیستی در برگ ارقام نخل خرما

Figure 1. Comparison between cultivar × Situation (with or without leaf drying disorder) interaction on the expression of genes coding receptors of biotic and abiotic stresses in date palm cultivars

یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که تحمل به عارضه‌ی خشکیدگی برگ در نخل خرما نتیجه‌ی فعال‌سازی هماهنگ چندین مسیر پیام‌رسانی مولکولی است که در ارقام متحمل (استعمران و حلاوی) به‌صورت کارآمد و در رقم حساس (برحی) به‌صورت ناقص عمل می‌کند. این یافته‌ها، برخلاف دیدگاه ساده‌انگارانه مبنی بر نقش انفرادی یک ژن، بر طبیعت چند عاملی و شبکه‌ای مقاومت تأکید دارد.

بررسی بیان ژن‌های *HTK* و *OSCA1* مرتبط با مسیرهای پاسخ به تنش‌های غیرزیستی: ژن‌های *HTK* و *OSCA1* در ارقام متحمل (به‌ویژه حلاوی بدون عارضه‌ی خشکیدگی) بیان بالاتری داشتند. *OSCA1* یک کانال کلسیم وابسته به تنش اسمزی است که در پاسخ به خشکی و شوری، جریان کلسیم سیتوزولی را القا می‌کند (Lamers et al., 2020). این پیام کلسیمی، مسیرهای پایین‌دستی مانند MAPK و عوامل رونویسی DREB2A و MYB44 را فعال می‌کند که منجر به تنظیم ژن‌های مرتبط با تحمل به خشکی می‌شود (Cao et al., 2020). کاهش شدید بیان *OSCA1* در نمونه‌های دارای عارضه‌ی خشکیدگی، به‌ویژه در رقم حساس برحی، احتمالاً نشان‌دهنده‌ی ناتوانی در القای این مسیرهای پیش‌فعال‌سازی دفاعی است.

بررسی بیان ژن‌های *FERONIA* و *CERK1* مرتبط با مسیرهای پاسخ به تنش‌های زیستی: ژن‌های *FERONIA* و *CERK1* در نمونه‌های دارای عارضه‌ی خشکیدگی از ارقام متحمل بیان بالاتری نشان دادند. *FERONIA* یک کیناز شبیه به گیرنده (RLK) است که در پاسخ به بیماری‌ها و تنش‌های زیستی نقش دارد (Huang et al., 2024). این پروتئین از طریق تعامل با کمپلکس FLS2-BAK1، فعال‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و بسته شدن روزنه‌ها را تنظیم می‌کند (Duan et al., 2022; Hatami et al., 2023). افزایش بیان *FERONIA* در رقم استعمران دارای عارضه‌ی خشکیدگی می‌تواند نشان‌دهنده‌ی فعال‌سازی هوشمندانه سیستم ایمنی در پاسخ به حضور پاتوژن‌های قارچی باشد. *CERK1* نیز یک گیرنده کیتین است که در شناسایی بیماری‌گرهای قارچی و القای پاسخ‌های دفاعی نقش دارد (Giovannoni et al., 2021). بیان بالاتر *CERK1* در حلاوی دارای عارضه‌ی خشکیدگی با مطالعه‌ی لی و همکاران (Le et

al., 2014) که نقش *CERK1* را در شناسایی کیتین قارچ‌ها تأیید کرده‌اند، همخوانی دارد.

بررسی بیان ژن *UVR8* مرتبط با مسیرهای پاسخ به تنش نوری: بیان *UVR8* در رقم حساس برحی بدون علایم عارضه‌ی خشکیدگی به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر نمونه‌ها بود. *UVR8* یک گیرنده UV-B است که در پاسخ به تابش فرابنفش، مسیرهای سیگنالینگ را فعال می‌کند (Jenkins et al., 2017). این مسیر شامل فاکتور رونویسی HY5 است که بیان ژن‌های مرتبط با سنتز فلاونوئیدها، ترمیم DNA و محافظت در برابر تنش اکسیداتیو را القا می‌کند (Chen et al., 2022).

بررسی بیان ژن *FLS2* مرتبط با مسیرهای ایمنی ذاتی: بیشترین بیان *FLS2* در حلاوی بدون عارضه‌ی خشکیدگی مشاهده شد. *FLS2* یک گیرنده فلاژلین است که در شناسایی بیماری‌گرهای باکتریایی و القای پاسخ‌های دفاعی نقش دارد (Zou et al., 2018). این یافته نشان می‌دهد که *FLS2* ممکن است در شرایط سالم، به‌عنوان بخشی از سیستم پیش‌فعال‌سازی دفاعی عمل کند.

این مطالعه نشان می‌دهد که تحمل به عارضه‌ی خشکیدگی برگ در نخل خرما نتیجه‌ی یک سیستم دفاعی چندمرحله‌ای است که شامل: پیش‌فعال‌سازی دفاعی در شرایط سالم (*FLS2*، *HTK*، *OSCA1*) و فعال‌سازی هوشمندانه سیستم ایمنی در زمان تنش (*CERK1*، *FERONIA*) و این مدل چندمرحله‌ای، با یافته‌های لی و همکاران (Liu et al., 2022)، ژائو و همکاران (Zhao et al., 2021) و کائو و همکاران (Cao et al., 2020) همخوانی کامل دارد و جایگاه نوآورانه‌ی در فهم مکانیسم‌های تحمل به خشکیدگی برگ در نخل خرما ایجاد می‌کند.

این مطالعه نشان داد که الگوی بیان ژن‌های *HTK* و *OSCA1* در شرایط عادی و ژن‌های *FERONIA* و *CERK1* در شرایط تنش، می‌تواند به‌عنوان شاخص‌های مولکولی برای تمایز ارقام متحمل (استعمران و حلاوی) و حساس (برحی) به عارضه خشکیدگی برگ نخل خرما مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهش، فناوری و ارتباط با جامعه دانشگاه شهید چمران اهواز و پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری به خاطر حمایت از اجرای این طرح پژوهشی سپاسگزاری می‌شود.

References

- Abdalla, M.Y., Al-Rokibah, A., Moretti, A. and Mule, G. (2000). Pathogenicity of toxigenic *Fusarium proliferatum* from date palm in Saudi Arabia. *Plant Disease*, 84: 321-24. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.3.321>
- Amani, M. (2015). Introduction to blight and leaf scorch diseases in date palm trees. The 2nd International Conference on Agricultural Engineering and Natural Resources, Tehran, Iran, [In Persian], pp. 143-44.
- Cao, L., Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y. and Li, H. (2020). Systematic analysis of the maize OSCA genes revealing ZmOSCA family members involved in osmotic stress and ZmOSCA2.4 confers enhanced drought tolerance in transgenic Arabidopsis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 351. <https://doi.org/10.3390/ijms21010351>
- Castro, C., Pieters, R., van der Does, D., van den Ackerveken, G. and de Vries, S.C. (2023). Priming grapevine with lipopolysaccharide confers systemic resistance to Pierce's disease and identifies a peroxidase linked to defense priming. *New Phytologist*, 239: 687-704. <https://doi.org/10.1111/nph.18945>
- Chen, Z., Dong, Y. and Huang, X. (2022). Plant responses to UV-B radiation: signaling, acclimation and stress tolerance. *Stress Biology*, 2: 51. <https://doi.org/10.1007/s44154-022-00076-9>
- Conrath, U., Beckers, G.J.M., Langenbach, C.J.G. and Jaskiewicz, M.R. (2015). Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology*, 53: 97-119. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120132>
- Duan, Z., Li, X., Wang, Y., Zhang, H. and He, P. (2022). Regulation of immune complex formation and signalling by FERONIA, a busy goddess in plant-microbe interactions. *Molecular Plant Pathology*, 23: 1695-1700. <https://doi.org/10.1111/mpp.13256>
- Franzisky, B.L., Al-Yahyai, R., Yaish, M.W. and Tester, M. (2025). Date palm diverts organic solutes for root osmotic adjustment and protects leaves from oxidative damage in early drought acclimation. *Journal of Experimental Botany*, 76: 1244-65. <https://doi.org/10.1093/jxb/erae456>
- Ghaedi, H., Kocheili, F., Latifian, M. and Farrokhinejad, R. (2020). Role of *Oryctes elegans* (Coleoptera: Scarabaeidae) as a vector of *Fusarium proliferatum*, the pathogen of Fusarium leaf wilt disease of date palm in Khuzestan Province. *Journal of Plant Protection Research*, 60: 371-77.
- Giovannoni, M., Boutrot, F., Zipfel, C. and Robatzek, S. (2021). The Arabidopsis thaliana LysM-containing receptor-like kinase 2 is required for elicitor-induced resistance to pathogens. *Plant, Cell & Environment*, 44: 3775-92. <https://doi.org/10.1111/pce.14192>
- Gomez-Gomez, L. and Boller, T. (2000). FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the preception of the bacterial elicitor flagellin in Arabidopsis. *Molecular Cell*, 5: 1003-1011. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)80265-8](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80265-8)
- Gu, S., Liu, Y., Wang, L., Huang, H. and Li, Y. (2023). A high-K⁺ affinity transporter (HKT) from *Actinidia valvata* is involved in salt tolerance in kiwifruit. *International Journal of Molecular Sciences*, 24: 15737. <https://doi.org/10.3390/ijms242115737>
- Hatami, F., Nazarian-Firouzabadi, F., Sohrabi, S.S. and Khademi, M. (2023). Identification and expression analysis of RLP and RLK gene family members in transcriptome of saffron infected with *Fusarium oxysporum* rot. *Plant Genetic Researches*, 11(1): 121-136 (In Persian). <https://doi.org/10.22034/PGR.11.1.8>
- Hazzouri, K.M., Cherif, E., Mohamoud, Y.A., Mathew, L.S., Al-Mssallem, I.S. and Malek, J.A. (2020). Prospects for the study and improvement of abiotic stress tolerance in date palms in the post-genomics era. *Frontiers in Plant Science*, 11: 293. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00293>
- Huang, X., Li, J., Wang, Y., Zhang, Y. and Zhang, H. (2024). FERONIA homologs in stress responses of horticultural plants: current knowledge and missing links. *Stress Biology*, 4: 28. <https://doi.org/10.1007/s44154-024-00161-1>
- Jenkins, G.I. (2017). Photomorphogenic responses to ultraviolet-B light. *Plant, Cell & Environment*, 40: 2544-57. <https://doi.org/10.1111/pce.12934>
- Kim, C., Park, J., Lee, S.H., Kim, D. and Choi, G. (2020). High ambient temperature accelerates leaf senescence via PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 4 and 5 in Arabidopsis. *Molecules and Cells*, 43: 645-61.
- Lamers, J., Van Der Meer, T. and Testerink, C. (2020). How plants sense and respond to stressful environments. *Plant Physiology*, 182: 1624-35. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01464>
- Le, M.H., Cao, Y., Zhang, X.C. and Stacey, G. (2014). LIK1, a CERK1-interacting kinase, regulates plant immune responses in Arabidopsis. *Plos One*, 9: e102245. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102245>
- Li, X., Wang, Y., Liu, Z., Zhang, T. and Kang, J. (2023). Genome-wide investigation and expression analysis of OSCA gene family in response to abiotic stress in alfalfa. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1285488. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1285488>
- Liu, C., Wang, Y., Li, X., Zhang, H. and Chen, S. (2022). Systematic characterization of the OSCA family members in soybean and validation of their functions in osmotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 23: 10570. <https://doi.org/10.3390/ijms231810570>
- Ma, Y., Dai, X., Xu, Y., Luo, W., Zheng, X., Zeng, D. and Chong, K. (2015). COLD1 confers chilling tolerance in rice. *Cell*, 160: 1209-1221. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.046>

- Mauch-Mani, B., Baccelli, I., Luna, E. and Flors, V. (2017). Defense priming: an adaptive part of induced resistance. *Annual Review of Plant Biology*, 68: 485-512. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-041132>
- Najafi Nia, M. and Azadvar, M. (2009). Leaf die-back of date palm as caused by *Natrassia mangiferae* in Kerman Province. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 39: 105-15.
- Outamamat, E., El Ghachtouli, N., Benjelloun, A., Benbrahim, M. and El Antri, H. (2021). Application of native or exotic arbuscular mycorrhizal fungi complexes and monospecific isolates from saline semi-arid Mediterranean ecosystems improved *Phoenix dactylifera*'s growth and mitigated salt stress negative effects. *Plants*, 10: 2501. <https://doi.org/10.3390/plants10112501>
- Patankar, H.V., Al-Yahyai, R., Yaish, M.W. and Kumar, P.P. (2016). Identification of reference genes for quantitative real-time PCR in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) subjected to drought and salinity. *Plos One*, 11: e0166216. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166216>
- Schmittgen, T.D. (2001). Real-time quantitative PCR. *Methods*, 25: 383-85. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1260>
- Tanaka, K. and Heil, M. (2021). Damage-associated molecular patterns (DAMPs) in plant immunity. *Journal of Plant Physiology*, 261: 153421
- Tsuda, K., Sato, M., Stoddard, T., Glazebrook, J. and Katagiri, F. (2009). Network properties of robust immunity in plants. *PloS Genetics*, 5: e1000772. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000772>
- Yaish, M.W., Al-Yahyai, R. and Kumar, P.P. (2015). A genome-wide identification of the miRNAome in response to salinity stress in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Frontiers in Plant Science*, 6: 946. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00946>
- Yu, H., Li, X., Wang, Y., Zhang, H. and He, P. (2022). Maize FERONIA-like receptor genes are involved in the response of multiple disease resistance in maize. *Molecular Plant Pathology*, 23: 1331-45. <https://doi.org/10.1111/mpp.13232>
- Zeynivand, M., Ismaili, A., Sohrabi, S.S. and Armand, N. (2025). Identification, isolation and characterization of some members of the Snakin/GASA genes family in *Echinacea purpureae*. *Plant Genetic Researches*, 11(2): 99-118 (In Persian). <http://dx.doi.org/10.22034/PGR.11.2.7>
- Zhao, C., Tan, L., Liu, X., Zhang, Y. and Li, Z. (2021). The LRXs-RALFs-FER module controls plant growth and salt stress responses by modulating multiple plant hormones. *National Science Review*, 8: nwaal49. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa149>
- Zou, Y., Li, X., Zhang, Y., Wang, Y. and He, P. (2018). Transcriptional regulation of the immune receptor FLS2 controls the ontogeny of plant innate immunity. *The Plant Cell*, 30: 2779-94. <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00297>