Journal of Agroecology
Homepage: https://agry.um.ac.ir/

CC BY

Research Article
Vol. 15, No. 3, Fall 2023, p. 543-563

Effect of *Trichoderma longibrachiatum* and Chitosan Spraying on Morphophysiological Characteristics and Yield of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) under Deficit Irrigation Conditions

Mahtab Miri[1], Hemmatollah Pirdashti[2*], Arastoo Abbasian[3], Zahra Nouri Akandi[4] and Mehranoosh Emamian Tabarestani[5]

Received: 21-10-2021
Revised: 09-12-2021
Accepted: 03-01-2022
Available Online: 03-01-2022

How to cite this article:
Miri, M., Pirdashti, H., Abbasian, A., Nouri Akandi, Z., & Emamian Tabarestani, M. (2023). Effect of *Trichoderma longibrachiatum* and chitosan spraying on morphophysiological characteristics and yield of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under deficit irrigation conditions. *Journal of Agroecology, 15(3),543-563.*
DOI: 10.22067/agry.2022.73081.1071

Introduction

Drought is one of the most important environmental stress adversely affecting agricultural products, especially in arid and semi-arid regions. Using *Trichoderma* fungus and biopolymers such as chitosan is one of the ways to reduce drought stress. *Trichoderma* fungus, as a plant growth-promoting fungus, is the most common fungal and soil-modifying species that can directly with plant roots in the rhizosphere and improve growth as well as biological control of living stresses such as pathogenic fungi and non-living stresses such as drought, salinity, and heavy metals. On the other hand, one of the effective ways to protect the plant in conditions of low irrigation is the use of anti-transpirants, including the biostimulant chitosan, which markedly limits transpiration from the plant surface. The anti-transipirants action of chitosan can be attributed to the involvement of chitosan in the abscisic acid pathways, which closes the stomata and thus reduces transpiration. Chitosan is readily soluble in water and organic acids. Therefore, it can be used in various methods such as mixing with soil, foliar spraying, and impregnation with seeds in agriculture.

Material and Methods

This research was conducted in a split factorial arrangement based on a randomized complete block design. The main plot factor was irrigation interval in three levels (two days as normal irrigation and three and four days as deficit irrigation conditions), and sub-plots were inoculated with *T. longibrachiatum* at two levels (inoculation and uninoculated control) and chitosan at three levels (0, 0.2 and 0.4 g/L). Each experimental plot consisted of three planting lines two and a half meters long and one meter wide. *T. longibrachiatum* was obtained from Tabarestan

1- M.Sc. of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
2- Professor, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
4- Ph.D. of Agronomy - Crop Ecology, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahroud, Iran.
5- Ph.D. of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
(*- Corresponding author's Email: h.pirdashti@sanru.ac.ir)

Agricultural Genetics and Biotechnology Research Institute. The first irrigation was done simultaneously with planting basil. Up to one month after sowing the seeds (six to eight-leaf stage of plants), the plots were irrigated evenly with tubes, and from this stage onwards, irrigation treatments were applied. Pesticides and herbicides were not used during the experiment, and weed control was done manually. Chitosan was prepared from the Sarina Teb store, in three levels of zero, 0.2, and 0.4 g/l, and sprayed in three stages: vegetative, before flowering, and 50% flowering.

Results and Discussion

The results showed that by increasing the irrigation period from two to four days, the morphological traits of basil, such as root length and stem length, leaf dry weight, root, stem, and dry matter yield decreased. Also, physiological traits of basil, such as carotenoids and chlorophyll meter, increased while chlorophyll *a*, *b*, and total chlorophyll decreased. Application of 0.2 g/L of chitosan inoculated plants increased chlorophyll *b* content by 68%. The highest percentage and yield of essential oil in normal and irrigation deficit conditions were obtained when plants were inoculated with *Trichoderma* and foliar sprayed with chitosan. The highest percentage and yield of essential oil were observed with an average of 0.88 and 42.87% in normal irrigation conditions, application of *Trichoderma*, and zero level of chitosan, respectively. According to the results, increasing the irrigation cycle, chitosan application and fungal inoculation, increased the percentage and yield of essential oil. However, by increasing the irrigation cycle, chitosan alone decreased the percentage and yield of essential oil, and only in the three-day irrigation cycle it increased the percentage of essential oil compared to the control.

Conclusion

Overall, the findings showed the positive effect of concomitant use of *Trichoderma* fungus and chitosan on improving the growth of sweet basil and increasing drought resistance.

Acknowledgments

Thanks and appreciation for the financial support provided by the Department of Agronomy and Plant Breeding Engineering, Sari Agricultural Sciences, and the Natural Resources University of Sari, Iran.

Keywords: Essential oils, Sweet basil, Dry weight, Photosynthetic pigments, Plant growth promoting microorganisms.

نشریه بوم شناسی کشاورزی
Homepage: https://agry.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی
جلد ۱۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، ص ۵۶۳-۵۴۳

تأثیر قارچ تریکودرما *Trichoderma longibrachiatum* و محلول‌پاشی کیتوزان بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و عملکرد ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط کم‌آبیاری

مهتاب میری[۱]، همت‌اله پیردشتی[۲*]، ارسطو عباسیان[۳]، زهرا نوری آکندی[۴] و مهرانوش امامیان طبرستانی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۹/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۳

چکیده

کم‌آبی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای محیطی است که تولید محصولات کشاورزی را به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک تحت تأثیر قرار داده و باعث کاهش عملکرد می‌شود. بهره‌گیری از ریزجانداران افزاینده رشد گیاه و استفاده از پلیمرهای زیستی مانند کیتوزان یکی از راهکارهای بهبود تحمل گیاه در شرایط کم‌آبیاری پیشنهاد شده است. در همین راستا، پژوهشی به‌منظور بررسی تأثیر قارچ *Trichoderma longibrachiatum* و محلول-پاشی کیتوزان بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و عملکرد ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط کم‌آبیاری، به‌صورت کرت‌های خرد شده-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عامل‌های آزمایش شامل کم‌آبیاری در سه سطح (دور آبیاری دو روز به‌عنوان آبیاری نرمال و سه و چهار روز به‌عنوان شرایط کم‌آبیاری) به‌عنوان عامل اصلی و کیتوزان در سه سطح (۰، ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر) و قارچ *T. longibrachiatum* در دو سطح شاهد و پیش‌تیمار با قارچ تریکودرما به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با افزایش دور آبیاری از دو به چهار روز، صفات مورفولوژیک ریحان، مانند طول ریشه افزایش و طول ساقه، وزن خشک برگ، ریشه، ساقه و عملکرد ماده خشک کاهش یافت. همچنین، صفات فیزیولوژیک ریحان مانند کاروتنوئید و عدد کلروفیل‌متر افزایش و مقدار کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل کاهش یافت. در مقایسه، کاربرد سطح ۰/۲ کیتوزان در شرایط تلقیح با قارچ سبب افزایش محتوای کلروفیل *b* به‌میزان ۶۸ درصد شد. همچنین، بالاترین درصد و عملکرد اسانس در هر دو شرایط آبیاری نرمال و کم‌آبیاری با کاربرد قارچ تریکودرما و کیتوزان حاصل شد. در مجموع، یافته‌ها بیانگر اثر مثبت کاربرد همزمان قارچ تریکودرما و کیتوزان در بهبود رشد رویشی و افزایش تحمل به تنش کم‌آبیاری در گیاه ریحان بود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، رنگیزه‌های فتوسنتزی، ریزجانداران افزاینده رشد گیاه، عدد کلروفیل‌متر، وزن خشک

مقدمه

تنش خشکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی به‌شمار می‌رود که می‌تواند بر تمام جنبه‌های رشد و نمو گیاه تأثیر بگذارد و سبب کاهش رشد و عملکرد گیاه شود (Farooq et al., 2009). میزان کم نزولات آسمانی، پراکنش نامنظم آن و درجه حرارت‌های بالا، موجب تنش خشکی در طول دوره رشد گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک،

۱- کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.
۲- استاد گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.
۳- استادیار گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.
۴- دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه صنعتی شاهرود، ایران.
۵- دکتری زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: h.pirdashti@sanru.ac.ir)

DOI: 10.22067/agry.2022.73081.1071

اختلال در جذب آب و مواد غذایی، فتوسنتز و تنفس و در نهایت، باعث کاهش تولید محصولات زراعی می‌شود (Larcher, 2001). کاهش تورژسانس، اولین اثر تنش آبی است که کاهش سرعت نمو، رشد طولی ساقه، رشد برگ و همچنین کاهش قطر منفذ روزنه از آن ناشی می‌شود (Levitt, 1980). کاهش تورژسانس ممکن است با تقلیل اندازه سلولی و کاهش سطح برگ همراه باشد. متعاقب کاهش سطح برگ در اثر تنش، جذب نور نیز کاهش یافته و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد و این اساس کاهش رشد در شرایط کم‌آبیاری است. مطالعات نشان می‌دهد که تنش ناشی از کمبود آب در گیاهان همچنین باعث تخریب غشای سلولی، تخریب و کاهش پروتئین‌ها، تخریب آنزیم‌ها، تولید مواد سمی و اختلالات هورمونی از جمله افزایش اسید آبسیزیک و کاهش تحریک‌کننده‌های رشد، آسیب به رنگیزه‌ها و پلاستیدها، کاهش مقدار و سنتز کلروفیل، کاهش رشد ریشه و گل‌های تلقیح شده می‌شود (Levitt, 1980). تنش خشکی، به‌ویژه با تولید گونه‌های اکسیژن فعال در تیلاکوئیدها، قادر به کاهش تراکم بافت کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها می‌باشد. در این شرایط، به‌دلیل بسته شدن روزنه‌ها در طول دوره تنش و تغییر کارآیی مصرف آب، ماده خشک تولیدی گیاه کاهش می‌یابد.(Kiani et al., 2008)

عکس‌العمل گیاهان دارویی به تنش رطوبتی بسته به شدت و دوره تنش و همچنین گونه و مرحله رشدی گیاه به‌میزان قابل‌ملاحظه‌ای متفاوت است. تولید و کیفیت متابولیت‌های ثانویه مثل آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و اسانس‌ها در گیاهان دارویی به‌وسیله عواملی محیطی تغییر می‌یابند و تنش خشکی نیز یکی از عوامل مهم و مؤثر در کمیت و کیفیت ترکیبات مؤثره این گیاهان می‌باشد. بنابراین، به‌کارگیری روش‌هایی که توسط آن‌ها گیاهان دارویی با ماده مؤثره بیشتر تولید شوند، حائز اهمیت است (Salimi et al., 2020). محرک‌های زیستی شامل ریزجانداران و متابولیت‌های آن‌ها می‌باشد که قادر به بهبود تولید و کیفیت ماده مؤثره گیاهان دارویی هستند که از جمله آن‌ها می‌توان به قارچ‌های افزاینده رشد اشاره نمود (Mikovacki et al., 2010). در این میان، گونه‌های قارچ تریکودرما به‌عنوان افزاینده رشد گیاهی جزء متداول‌ترین گونه‌های قارچی و اصلاح‌کننده خاک می‌باشند که در سطح تجاری تولید می‌شوند (Vinale et al., 2008; Kaewchai et al., 2009). پژوهش‌های اخیر نشان داده است که برخی از گونه‌های تریکودرما قادرند به‌طور مستقیم در منطقه ریزوسفر به‌عنوان افزاینده رشد گیاه، سبب بهبود رشد (Sharma et al., 2012) و همچنین کنترل زیستی تنش‌های زنده از قبیل قارچ‌های بیماری‌زا (John et Sallam et al., 2008 ; al., 2010) و تنش‌های غیرزنده از جمله خشکی (Bae et al., 2009)، شوری (Hashem et al., 2014) و فلزات سنگین (Arriagada et al., 2009) شوند. به‌کارگیری این گونه قارچ‌ها بهبود رشد و میزان فتوسنتز خالص در گیاهچه برنج (*Oryza sativa* L.) (Doni et al., 2014)، سویا (*Glycine max* L.) (John et al., 2010)، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) (Sallam et al., 2008) و مقاومت به تنش خشکی برنج (Shukla et al., 2012) را به دنبال داشت.

یکی از راهکارهای مؤثر برای حفظ گیاه در شرایط تنش کم-آبیاری، استفاده از مواد ضد تعرق، از جمله محرک زیستی کیتوزان[1] می‌باشد که باعث می‌شود، تعرق از سطح گیاه بسیار محدود شود. عملکرد ضدتعرق کیتوزان را می‌توان به دخالت کیتوزان در مسیرهای اسید آبسزیک نسبت داد که باعث بسته شدن روزنه و در نتیجه، کاهش تعرق می شود (Willmer & Pricker, 1996). کیتوزان پلی ساکارید گلوکوزامین مشتق شده از کیتین (در اسکلت خارجی بند پایان مانند حشرات، خرچنگ ردیایی، میگوها، خرچنگ‌ها و دیواره سلولی نوع خاصی از جلبک‌ها وجود دارد) است (Dutta et al., 2004). کیتوزان و بعضی از مشتقاتش به‌آسانی در آب و اسیدهای آلی مانند اسید الکتیک و اسید استیک قابل حل بوده و بنابراین، می‌توانند به روش‌های مختلف مانند مخلوط کردن با خاک (Hirano, 1996)، محلول‌پاشی برگی (Ramos-Garcia et al., 2009) و آغشته کردن به بذر (Chmielewski et al., 2007) در کشاورزی استفاده شوند. کیتوزان از طرف دیگر، می‌تواند به‌عنوان جاذب رطوبت عمل کند (Malekpour et al., 2015). همچنین محلول‌پاشی با ترکیبات کیتوزانی باعث کاهش مقدار تولید مالون‌دی‌آلدئید، به‌عنوان کاهش مقدار خسارت در شرایط تنش خشکی، در سلول‌های گیاهی می‌شود (Yang et al., 2009). افزایش کارآیی مصرف آب (Boonlertinirun et al., 2008)، کاهش صدمه ناشی از تنش خشکی (Morello et al., 2005)، افزایش مدت ماندگاری میوه‌ها (Uthairatanakij et al., 2007) و گل‌ها (Iriti & Faoro, 2009) و تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Zhili et al., 2012) با مصرف ترکیبات کیتوزانی نیز گزارش شده است. هنگ و همکاران

1- Chitosan

(Heng et al., 2012) در بررسی اثر محرک کیتوزان بر گیاه دارویی پونه (*Mentha pulegium* L.) گزارش نمودند که ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک گیاه با مصرف محرک کیتوزان افزایش یافت. دژانگ (Dzung, 2011) نیز گزارش نمود که کاربرد 60 میلی‌گرم در لیتر کیتوزان، ارتفاع بوته و عملکرد ماده خشک قهوه (*Coffea Arabica* L.) را افزایش داد.

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی یکساله، علفی و متعلق به خانواده نعناع و از معروف‌ترین گیاهان دارویی است. منشأ این گیاه هند، ایران و افغانستان گزارش شده است (Ziaei et al., 2014)، این گیاه کاربرد زیادی در درمان بسیاری از بیماری‌ها، از جمله ناراحتی‌های کلیوی، سرفه، بزرگ شدن طحال و برخی ناراحتی‌های قلبی دارد (Sajjadi, 2006). از طرف دیگر، به‌خاطر دارا بودن ترکیبات معطر، عملکرد ضدباکتری، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی دارد و در صنایع غذایی، بهداشتی، آرایشی و غیره نیز به‌کار می‌رود (Labra et al., 2004). از آنجا که بررسی اثر عوامل محیطی، بر کارکرد گیاه و همچنین عکس العمل‌های گیاه نقش مهمی در موفقیت کشت گیاهان دارویی دارد بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر قارچ *Trichoderma longibrachiatum* و محلول‌پاشی کیتوزان بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و عملکرد ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط کم‌آبیاری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار و تابستان سال ۱۳۹۶ در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عامل‌های آزمایشی شامل کم‌آبیاری در سه سطح (دور آبیاری دو روز به‌عنوان آبیاری نرمال و سه و چهار روز به‌عنوان شرایط کم-آبیاری) به‌عنوان عامل اصلی و کیتوزان در سه سطح (۰، ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر) (Gerami et al., 2020; Salehi et al., 2017) و قارچ *Trichoderma longibrachiatum* در دو سطح شاهد و پیش‌تیمار بذر با قارچ به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. هر کرت آزمایش شامل سه خط کشت به‌طول دو و نیم و عرض یک متر بود. فاصله بین ردیف‌ها ۲۵ سانتی‌متر و فواصل بین کرت‌ها و بلوک‌ها از یکدیگر به‌ترتیب نیم و یک متر در نظر گرفته شد. قارچ *T. longibrachiatum* از پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان تهیه شد. بذر ریحان سبز (توده بومی) با تراکم مطلوب ۸۰ بوته در مترمربع در تیمارهای الگوهای کشت به صورت دستی کشت شدند. بر اساس نقشه طرح، ردیف‌های کاشت آبیاری شده و بعد از کمی فروکش کردن آب، بذر گیاه ریحان به صورت شاهد و پیش تیمار با قارچ تریکودرما توسط دست در این شیارها کشت و روی آن با مقدار کمی خاک خشک و نرم پوشانیده شد. برخی ویژگی‌های خاک در جدول ۱ آورده شد.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

Table 1- Physicochemical characteristics of farm soil

پارامتر Parameter	واحد Unit	مقدار Amount
پی‌اچ pH	-	7.3
نیتروژن N	(٪)	0.22
فسفر P	($mg.kg^{-1}$)	14
پتاسیم K	($mg.kg^{-1}$)	280
بافت Texture	(٪)	رسی سیلتی Silty clay

اولین آبیاری همزمان با کاشت گیاه ریحان در ۱۷ خرداد ماه انجام شد. تا یک ماه پس از کاشت بذور (مرحله شش تا هشت برگی شدن بوته‌ها)، کرت‌ها به‌صورت مساوی با فاصله زمانی دو روز به‌وسیله لوله‌ها آبیاری و از این مرحله به بعد، تیمارهای آبیاری اعمال شدند. پس از سبز شدن، عملیات تنک کردن گیاهچه‌ها به‌صورت دستی انجام گرفت. در طی انجام آزمایش از آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌ها استفاده نگردید و مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام شد. کیتوزان از فروشگاه سارینا طب تهیه و در سه سطح صفر، ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر آماده و در سه مرحله، رویشی، قبل از گل‌دهی و ۵۰ درصد گل‌دهی محلول‌پاشی شد. هفتاد و هفت روز پس از کاشت گیاه اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک انجام شد. صفات مورفولوژیک شامل طول ساقه و ریشه با خط‌کش مدرج اندازه‌گیری شدند. سپس اندام‌های مختلف جدا و وزن خشک ساقه، برگ و ریشه با ترازوی دقیق به‌دست آمد. پس از خشک‌کردن بخش‌های مختلف در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت وزن خشک آن‌ها نیز تعیین شد.

اندازه‌گیری عدد کلروفیل‌متر برگ نیز ۳۰ روز پس از اعمال کم-آبیاری با دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD-502 Minolta, Japan) و از سه نقطه از برگ‌های جوان و توسعه‌یافته گیاه اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به‌عنوان عدد نهایی در محاسبه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین میزان کلروفیل برگ در زمان قبل از گل‌دهی از هر کرت مقدار ۱۰ گرم از برگ گیاه را در متانول به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده، سپس میزان نور جذبی محلول در طول موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Analytic jena-SPEKOL 1300) قرائت و ثبت گردید. در نهایت، میزان کلروفیل *a* (Chl_a)، b (Chl_b)، کلروفیل کل (Chl_{a+b})، نسبت کلروفیل *a/b* ($Chl_{a/b}$) و کاروتنوئید به‌ترتیب با استفاده از روابط یک تا پنج محاسبه و بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش گردید (Porra, 2002).

در آخر بعد از برداشت، نمونه‌ها هواخشک شده و مقدار ۳۰ گرم از آن خرد شده با ۶۰۰ میلی‌لیتر (به‌ازای هر ۱۰ گرم ۲۰۰ میلی‌لیتر) آب مقطر مخلوط شد. در ادامه، عمل اسانس‌گیری به‌روش تقطیر با آب مقطر به‌مدت سه الی چهار ساعت در دستگاه کلونجر انجام و میزان اسانس نمونه‌ها با استفاده از سولفات سدیم تعیین شد (Adams, 2017).

معادله (۱)

$$Chl_a\ (\mu g/ml) = 16.72\ A_{665.2} - 9.16\ A_{652.4}$$

پس از پایان آزمایش و اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ تجزیه و تحلیل انجام شد. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر عامل‌های آزمایشی نشان داد، که اثر ساده کم‌آبیاری بر طول ریشه و اثر ساده قارچ بر طول ساقه و وزن خشک ریشه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین، تیمار با کیتوزان بر تمامی صفات مورد بررسی به‌جز طول ریشه اثر معنی‌دار نشان داد. بین قارچ و کم‌آبیاری از نظر تمامی صفات به‌جز طول ریشه و وزن خشک ساقه برهم‌کنش معنی‌داری مشاهده شد. برهم‌کنش قارچ و کیتوزان از نظر تأثیر بر وزن خشک برگ، ساقه و ریشه معنی‌دار بود. اثر متقابل کم‌آبیاری و کیتوزان تنها بر صفات طول ساقه و وزن خشک برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. برهم‌کنش سه‌گانه تیمارها تنها بر وزن خشک برگ در سطح احتمال یک درصد و وزن خشک ریشه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

اثر متقابل کم‌آبیاری و قارچ، تلقیح قارچ در شرایط آبیاری معمولی سبب افزایش معنی‌دار میزان طول ساقه ریحان در حدود ۲۳ درصد نسبت به سطح عدم تلقیح گردید. در شرایط کم‌آبیاری (سه و چهار روز) تلقیح با قارچ نتوانست به طرز معنی‌داری طول ساقه ریحان را نسبت به شاهد افزایش دهد (شکل ۱- الف). در آزمایشی گلخانه‌ای نیز به‌منظور ارزیابی اثر برخی از جدایه‌های *Trichoderma* spp. به‌عنوان افزاینده رشد گیاهچه‌های خیار (*Cucurbita sativus* L.) نشان داده شد که جدایه‌های *Trichoderma* spp. و *T. longibrachiatum* بیشترین تأثیر را در افزایش طول ساقه هر یک به‌میزان ۷۴ درصد نسبت به شاهد داشتند (Taghinasab Darzi, 2012).

$$Chl_b(\mu g/ml) = 34.09\ A_{652.4} - 15.28\ A_{665.2}$$ معادله (۲)

$$Chl_{a+b}\ (\mu g/ml) = Chl_a + Chl_b$$ معادله (۳)

$$Chla_{/b}(\mu g/ml) = Chl_a\ /Chl_b$$ معادله (۴)

$$\text{Carotenoid}\ (\mu g/ml) = (1000\ A_{470} - 1.63\ Chl_a - 104.96\ Chl_b)/221$$ معادله (۵)

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کم‌آبیاری، قارچ تریکودرما و کیتوزان بر صفات مورفولوژیک و وزن خشک گیاه ریحان

Table 2- Analysis of variance (mean of squares) of the effect of irrigation deficit, *Trichoderma* fungus, and chitosan on morphological traits and dry weight of basil plant

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean of squares				
		طول ساقه Stem length	طول ریشه Root length	وزن خشک Dry weight		
				برگ Leaves	ساقه Stem	ریشه Root
بلوک Block	2	8.13	4.37	0.0001	0.004	0.001
کم‌آبیاری (D) Irrigation deficit	2	11.95	15.31**	0.0004	0.004	0.0007
خطای اصلی Main error	4	2.95	1.16	0.0004	0.0004	0.0007
قارچ (F) Fungi	1	51.15*	0.0002	0.001	0.004	0.002*
کیتوزان (C) Chitosan	2	32.75*	1.35	0.002*	0.06**	0.002*
D×F	2	35.03*	1.35	0.02**	0.003	0.005**
F×C	2	13.37	6.45	0.01**	0.03*	0.002*
D×C	4	44.08**	3.96	0.003**	0.004	0.0006
D×F×C	4	4.54	3.62	0.01**	0.005	0.001*
خطای آزمایش Error	12	7.7	2.61	0.0004	0.008	0.0005
ضریب تغییرات C.V (%)		10.21	18.16	5.48	22.36	15.25

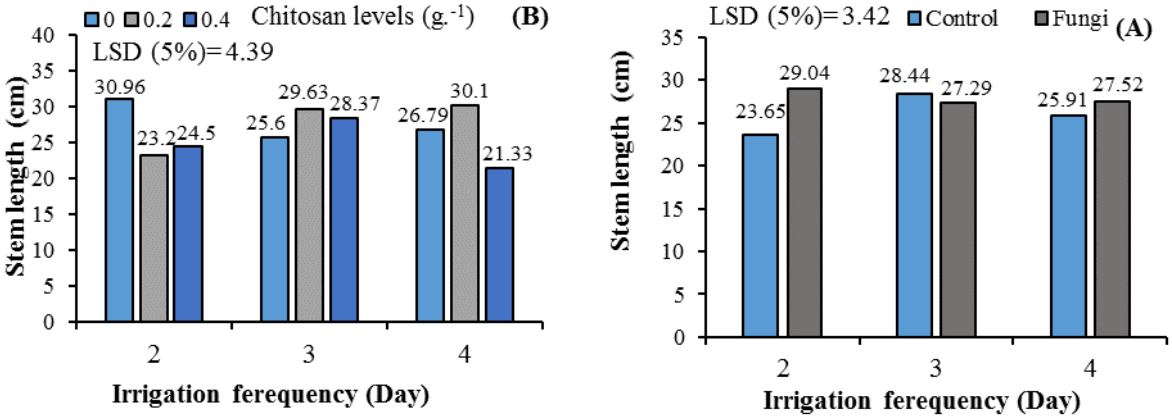
* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

*, **: are significant at 5 and 1% probabiligy levels, respectively.

بر اساس یافته‌ها، در شرایط کم‌آبیاری دور سه و چهار روز، محلول‌پاشی سطح ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان سبب افزایش به‌ترتیب حدود ۱۶ و ۳۰ درصدی طول ساقه گردید، امّا این افزایش نسبت به شاهد (عدم محلول‌پاشی) معنی‌دار نبود (شکل ۱- ب). یکی از اولین نشانه‌های کمبود آب، کاهش تورژسانس و در نتیجه، کاهش رشد و توسعه سلول به‌ویژه در ساقه و برگ‌ها است. با کاهش رشد سلول، اندازه اندام محدود می‌شود و به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم‌آبیاری در گیاه را می‌توان از روی کاهش ارتفاع و اندازه کوچک‌تر اندام‌ها تشخیص داد. کاهش ارتفاع گیاه در اثر تنش آبی نیز پیش‌تر توسط بزازی و همکاران (Bazazi et al., 2013) در شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) سودائی‌زاده و و همکاران (Sodaizadeh et al., 2016) در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) گزارش شد. بر اساس یافته‌ها، کاربرد کیتوزان در شرایط تنش تا حدودی طول ساقه را افزایش داد. هنگ و همکاران (Heng et al., 2012) نیز در گیاه دارویی پونه (*Mentha pulegium* L.) و دژانگ (Dzung, 2011) در قهوه نتیجه گرفتند که ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک گیاه پاسخ مثبتی به کاربرد کیتوزان نشان دادند.

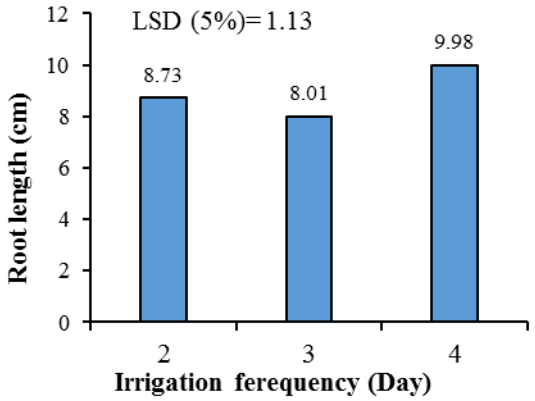
با افزایش دور آبیاری به چهار روز، طول ریشه (با میانگین ۹/۹۸ سانتی‌متر) گیاه نسبت به شرایط آبیاری معمول حدود ۱۲/۵ درصد و به‌صورت معنی‌داری بیشتر شد (شکل ۲). به‌نظر می‌رسد، زمانی که گیاه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد، حتی قبل از هرگونه کاهش در تورژسانس، انعطاف‌پذیری دیواره سلول‌های در حال رشد

برگ‌ها و ساقه‌ها عموماً کم شده و توسعه سلول و در نتیجه، رشد اندام‌ها کم می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد دیواره سلولی ریشه به کمبود آب حساسیت کمتری داشته و ممکن است وقتی که رشد اندام‌های هوایی متوقف شده باشد، رشد ریشه ادامه پیدا کند (Mohammadi et al., 2015; Abdel-Monaim, 2013). به‌طور مشابهی، در پژوهشی با بررسی ارقام گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای مشخص شد که طول، حجم و عمق ریشه با شدت گرفتن تنش خشکی افزایش می‌یابد و ارقام متحمل‌تر از خصوصیات مطلوب‌تر سیستم ریشه‌ای در شرایط تنش برخوردار می‌باشند (Clark & McCaig IN, 1993).



شکل ۱- برهم‌کنش کم‌آبیاری و قارچ (آ) و کم‌آبیاری و کیتوزان (ب) بر طول ساقه ریحان

Fig. 1- Interaction of deficit irrigation fungus (A) and deficit irrigation and chitosan (B) on the stem length of basil



شکل ۲- اثر کم‌آبیاری بر طول ریشه ریحان

Fig. 2- The effect of irrigation deficit on basil root length

در برهم‌کنش قارچ و کیتوزان بر وزن خشک برگ ریحان، بیشترین میزان وزن خشک برگ در شرایط آبیاری معمول، عدم تلقیح با قارچ و سطح ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان با میانگین ۰/۵۵ گرم مشاهده شد. در شرایط کم‌آبیاری سه روز، تلقیح با قارچ در سطح ۰/۲ و ۰/۴ کیتوزان باعث کاهش وزن خشک برگ شد، امّا در سطح صفر کیتوزان تأثیری نداشت. در مقایسه، در کم‌آبیاری چهار روز تلقیح با قارچ در سطح صفر و ۰/۲ کیتوزان وزن خشک برگ را به‌ترتیب به میزان ۷۰ و ۴۸ درصد افزایش داد، امّا در سطح ۰/۴ کیتوزان تأثیری نداشت (جدول ۳).

جدول ۳- برهم‌کنش قارچ و کیتوزان بر وزن خشک برگ ریحان (گرم در بوته) در دورهای مختلف آبیاری
Table 3 - Interaction of fungus and chitosan on leaf dry weight of basil (g.plant^{-1}) in different irrigation periods

قارچ Fungus	کیتوزان Chitosan levels (g.l^{-1})	دور آبیاری (روز) Irrigation interval (Day)		
		2	3	4
شاهد Control	0	0.35	0.34	0.27
	0.2	0.55	0.47	0.31
	0.4	0.38	0.34	0.35
قارچ تریکودرما *Trichoderma* fungus	0	0.36	0.36	0.46
	0.2	0.17	0.42	0.46
	0.4	0.36	0.32	0.34
LSD (5%)			0.05	

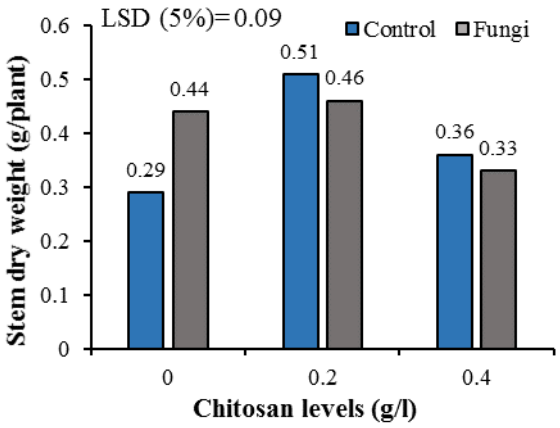
یافته‌ها نشان داد که در شرایط کم‌آبیاری (دور آبیاری سه و چهار روز)، تلقیح گیاهان با قارچ و محلول‌پاشی کیتوزان در سطح ۰/۲ گرم در لیتر بیشترین وزن خشک ریشه را سبب شد (جدول ۴).

جدول ٤- برهم‌کنش قارچ و کیتوزان بر وزن خشک ریشه ریحان (گرم در بوته) در دورهای مختلف آبیاری
Table 4 - Interaction of fungus and chitosan on root dry weight of basil (g.plant^{-1}) in different irrigation periods

قارچ Fungus	کیتوزان Chitosan levels (g.l^{-1})	دور آبیاری (روز) Irrigation interval (Day)		
		2	3	4
شاهد Control	0	0.17	0.15	0.14
	0.2	0.24	0.17	0.19
	0.4	0.16	0.15	0.13
قارچ تریکودرما *Trichoderma* fungus	0	0.14	0.12	0.16
	0.2	0.08	0.16	0.20
	0.4	0.14	0.13	0.17
LSD (5%)			0.05	

طبق نمودار اثر متقابل قارچ و کیتوزان، کاربرد قارچ در سطوح ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان نتوانست اثر افزایشی و مثبتی بر میزان وزن خشک ساقه بگذارد. تنها در تیمار عدم کاربرد، کیتوزان سبب افزایش معنی‌دار و حدود ۵۲ درصدی میزان وزن خشک ساقه نسبت به سطح عدم تلقیح گردید. کاربرد غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان میزان وزن خشک ساقه را به‌طور معنی‌دار و ۴۳ درصد نسبت به سطح شاهد (عدم تلقیح و عدم کاربرد کیتوزان) افزایش داد. کمترین میزان وزن خشک ساقه با میانگین ۰/۲۹ گرم در سطح صفر کیتوزان و عدم تلقیح مشاهده شد (شکل ۳).

نتایج نشان از اثربخشی مثبت کیتوزان بر وزن خشک برگ، ریشه و ساقه در سطوح مختلف کم‌آبیاری بود. نتایج پژوهش و هیدالگو همکاران (Hidalgo et al., 1996) نیز نشان داد که تیمار بذرهای گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) با کیتوزان وزن خشک و قطر ساقه را در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش داد. محلول‌پاشی کیتوزان نیز اثر مثبتی بر وزن خشک اندام هوایی در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) داشت (Mahdavi et al., 2010). کاربرد برگی کیتوزان بر رشد و ویژگی‌های مورفولوژیک گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) تأثیر گذاشته و به‌عنوان عامل مثبتی بر بسیاری از ویژگی‌های مورفولوژیک و رشد (ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی) مؤثر بوده است (Hussaini et al., 2013).



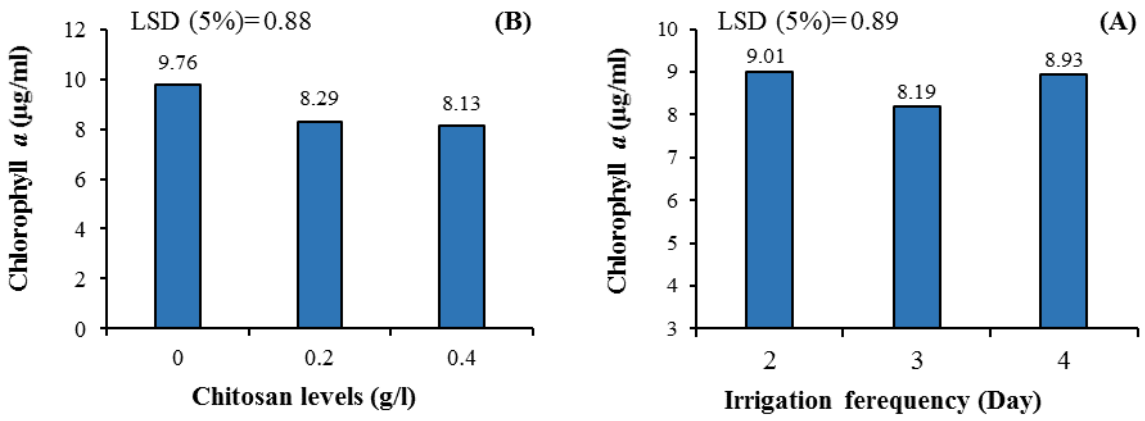
شکل ۳- برهم‌کنش قارچ و کیتوزان بر وزن خشک ساقه ریحان

Fig. 3- Interaction of fungus and chitosan on the dry weight of basil stems

همچنین در پژوهشی دیگر که روی گیاه گوجه‌فرنگی صورت گرفت، محلول‌پاشی کیتوزان باعث افزایش تعداد شاخه، تعداد برگ، وزن خشک برگ و اندام هوایی شد (El-Tantawy, 2009). در تحقیقات مشابه که در دو گیاه توت‌فرنگی (*Fragaria ananassa* Duch.) و برنج انجام شد، کاربرد کیتوزان افزایش وزن تر و خشک برگ را به همراه داشت (Abdel-Mawgoud et al., 2010). در پژوهشی مشابه، کاربرد برگی کیتوزان سبب افزایش وزن خشک برگ و اندام هوایی در گیاه فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) شد (Ghoname et al., 2010). گزارش شده است که کیتوزان باعث رشد، توسعه سلولی و در نتیجه، افزایش عملکرد در گیاه می‌شود. همچنین، کیتوزان با استفاده از افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم نیتروژن (نیترات ردکتاز، گلوتامین و پروتئازسنتتاز) و بهبود انتقال نیتروژن باعث بهبود رشد و نمو گیاه می‌شود (Mondal et al., 2012). القای سیگنالی برای سنتز هورمون‌های گیاهی مانند جیبرلین و اکسین از طریق مسیر وابسته به تریپتوفان و در نتیجه، بهبود رشد و نمو گیاه از سازوکارهای دیگر این محرک زیستی عنوان شده است (Hussaini et al., 2013). کیتوزان با به‌کارگیری سازوکارهایی که مسئول حفاظت از گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو هستند، می‌تواند خشکی را کنترل کند (Yang et al., 2009). در این پژوهش، کاربرد قارچ تریکودرما در شرایط کم‌آبیاری سبب افزایش وزن خشک ریشه و در شرایط عدم محلول‌پاشی کیتوزان سبب افزایش وزن خشک ساقه گردید. انیس و همکاران (Anith et al., 2011) نیز در پژوهشی بیان کردند که مایه‌زنی هم‌زمان قارچ‌های شبه‌میکوریزا و تریکودرما باعث افزایش معنی‌داری در وزن تر ساقه و وزن خشک ساقه در گیاه فلفل سیاه (*Piper nigrum* L.) شد. کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2004) نیز دریافتند که همزیستی قارچ میکوریزا از راه بهبود گسترش هیف‌های قارچ در منافذ خاک، سبب افزایش وزن خشک گیاه در گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) گردید. تقوی قاسمخیلی و همکاران (Taghavi Ghasemkheili et al., 2014) نشان دادند، حضور تریکودرما در محیط رشد گیاه تأثیر معنی‌داری بر بهبود عملکرد دانه و شاخص تحمل گیاه جو داشت، به‌طوری‌که این صفات در مقایسه با شاهد به‌ترتیب ۱۷ و ۲۲ درصد افزایش یافتند. اثر مثبت گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما بر رشد رویشی گیاهانی از جمله خرفه (*Portulaca oleracea* L.) (Nouri Akandi, 2020)، گندم (*Capsicum frutescens* L.) (Yagubian et al., 2012) و فلفل (Mohammadi Kashka et al., 2016) توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج آنالیز واریانس رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد، اثر ساده کم‌آبیاری بر عدد کلروفیل‌متر، کلروفیل *a*، کلروفیل کل و کاروتنوئید معنی‌دار بود. هچنین، تأثیر کیتوزان بر محتوای کلروفیل *a* و *a+b* در سطح پنج درصد و نسبت کلروفیل *a/b* در سطح یک درصد معنی‌دار بود. برهم‌کنش کم‌آبیاری و قارچ بر عدد کلروفیل‌متر و کلروفیل کل معنی‌دار بود. اثر متقابل قارچ و کیتوزان بر میزان عدد کلروفیل‌متر، محتوای کلروفیل *b* و کلروفیل کل معنی‌دار بود. برهم‌کنش سه‌گانه کم‌آبیاری، قارچ و کیتوزان تنها از نظر محتوای کلروفیل *b* معنی‌دار بود (جدول ۵).



شکل ٤- اثر کم‌آبیاری (آ) و کیتوزان (ب) بر محتوای کلروفیل *a* برگ ریحان

Fig. 4- The effect of irrigation deficit (A) and chitosan (B) on the chlorophyll *a* of basil leaves

جدول ٥- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کم‌آبیاری، قارچ تریکودرما و کیتوزان بر عدد اسپد و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه ریحان

Table 5- Analysis of variance (mean of squares) of the effect of irrigation deficit, *Trichoderma* fungus, and chitosan on SPAD number and photosynthetic pigments of the basil plant

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean of squares					
		عدد اسپد SPAD	کلروفیل Chlorophyll				کاروتنوئید Carotenoid
			a	*b*	*a+b*	*a/b*	
بلوک Block	2	25.63	0.63	0.08	1.19	0.54	0.12
کم‌آبیاری (D) Irrigation deficit	2	52.58*	4.38*	0.42	9.27**	0.004	0.69**
خطای اصلی Main error	4	36.29	0.62	0.09	0.74	0.22	0.09
قارچ (F) Fungi	1	19.68	5.04	0.22	5.25	0.14	0.000008
کیتوزان (C) Chitosan	2	41.49	11.26**	0.32	16.27**	0.78*	0.22
D×F	2	57.72*	4.29	0.19	6.59*	0.07	0.02
F×C	2	52.18*	1.45	1.13**	5.18*	0.39	0.26
D×C	4	38.7	2.91	0.32	3.43	0.19	0.05
D×F×C	4	11.04	1.35	0.76**	2.14	0.28	0.15
خطای آزمایش Error	12	15.23	1.2	0.14	1.33	0.21	0.07
ضریب تغییرات C.V (%)		17.78	12.61	14.06	10.02	14.49	14.36

*و**: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد.

*, **: are significant at 5 and 1%, respectively.

طبق نتیجه اثر ساده کم‌آبیاری بر کلروفیل *a*، در دور آبیاری سه روز محتوای کلروفیل *a* کاهش یافت، در حالی که در دور آبیاری چهار روز این میزان با شرایط نرمال آبیاری (دور آبیاری دو روز) تفاوت معنی‌دار نداشت و از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۴- الف). نمودار اثر ساده کیتوزان بر کلروفیل *a* نشان داد، با کاربرد کیتوزان محتوای کلروفیل *a* حدود ۱۵ درصد نسبت به سطح شاهد کمتر شد (شکل ۴- ب).

براساس یافته‌ها، در شرایط آبیاری معمولی کاربرد کیتوزان بدون

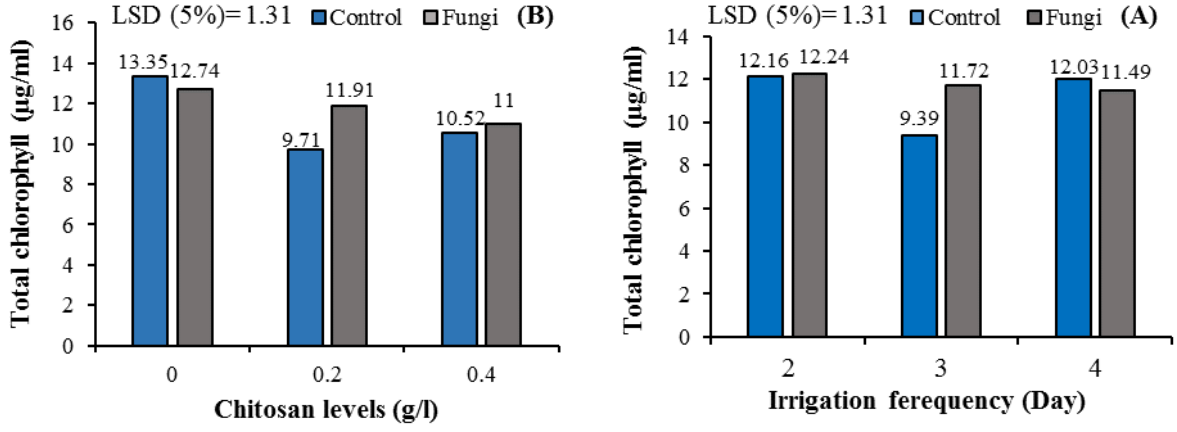
تلقیح قارچ سبب کاهش کلروفیل *b* شد در حالی که، کاربرد ۰/۲ کیتوزان در گیاهان همزیست‌شده با قارچ سبب افزایش کلروفیل *b* به‌میزان ۶۸ درصد شد. در شرایط کم‌آبیاری سه روز، کاربرد ۰/۲ کیتوزان با تلقیح قارچ باعث افزایش کلروفیل *b* به‌میزان ۳۸ درصد نسبت به شرایط بدون تلقیح قارچ شد. در شرایط کم‌آبیاری چهار روز، کاربرد سطح ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل *b* در حدود ۲۹ درصد شد (جدول ۶).

جدول ٦- برهم‌کنش قارچ و کیتوزان بر کلروفیل *b* (میکروگرم در میلی‌لیتر) در دورهای مختلف آبیاری

Table 6- Interaction of fungus and chitosan on Chlorophyll *b* (µg.ml^{-1}) in different irrigation periods

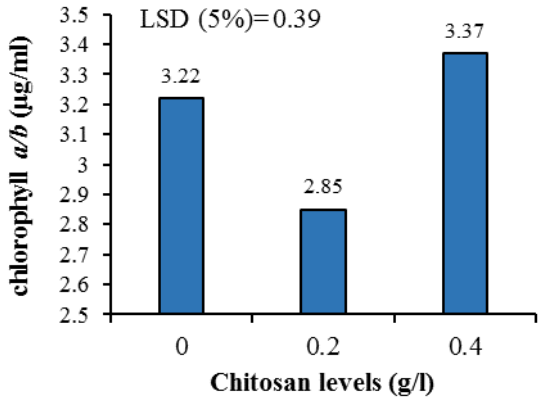
قارچ Fungus	کیتوزان Chitosan levels (g.l^{-1})	دور آبیاری Irrigation interval (Day)		
		2	3	4
شاهد Control	0	3.61	2.52	3.54
	0.2	2.17	2.26	2.41
	0.4	2.91	2.32	2.6
قارچ تریکودرما *Trichoderma* fungus	0	2.74	2.87	2.48
	0.2	3.65	3.13	2.25
	0.4	2.48	2.25	3.37
LSD (5%)			0.73	

نتایج اثر متقابل کم‌آبیاری و قارچ نشان داد که کلروفیل کل در همه شرایط در بالاترین میزان خود با میانگین حدود ۱۲-۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و تنها در شرایط عدم تلقیح با قارچ و آبیاری سه روز کلروفیل کل کاهش پیدا کرد و به ۹/۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید. بیشترین افزایش اثر قارچ (حدود ۲۵ درصد) در شرایط کم‌آبیاری سه روز مشاهده شد (شکل ۵- الف). محلول‌پاشی ۰/۲ گرم در لیتر در گیاهان همزیست‌شده با قارچ حدود ۱۸ درصد محتوای کلروفیل کل را در مقایسه با گیاهان شاهد بهبود بخشید. در مقایسه، این افزایش در سطح ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (شکل ۵- ب). بیشترین نسبت کلروفیل *a/b* در اثر ساده کیتوزان، در سطح ۰/۴ کیتوزان با میانگین ۳/۳۷ مشاهده شد، امّا اختلاف معنی‌داری با سطح صفر نداشت. در مقایسه، کاربرد ۰/۲ کیتوزان نسبت کلروفیل *a/b* را کاهش داد (شکل ۶). بیشترین محتوای کاروتنوئید در شرایط کم‌آبیاری چهار روز با میانگین ۲/۱۴ و حدود ۱۲ درصد افزایش نسبت به سطح شاهد مشاهده شد (شکل ۷).



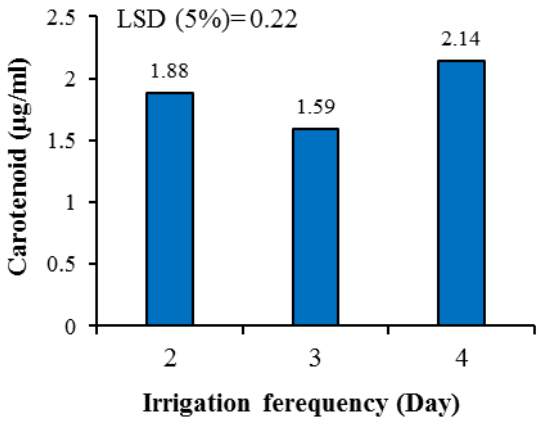
شکل ۵- برهم‌کنش کم‌آبیاری و قارچ (آ) و قارچ و کیتوزان (ب) بر محتوای کلروفیل کل برگ ریحان

Fig. 5- Interaction of deficit irrigation fungus (A) and fungus and chitosan (B) on the total chlorophyll content of basil leaves



شکل ٦- اثر کیتوزان بر نسبت کلروفیل *a/b* ریحان

Fig. 6- The effect of chitosan on the chlorophyll *a/b* ratio of basil



شکل ۷- اثر کم‌آبیاری بر محتوای کاروتنوئید برگ ریحان

Fig. 7- The effect of irrigation deficit on the carotenoid content of basil leaves

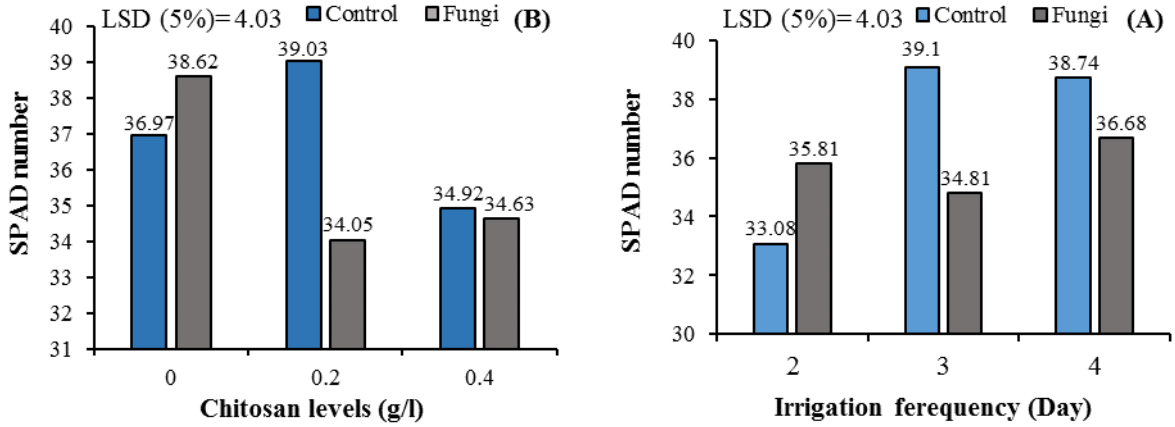
در بررسی اثر متقابل کم‌آبیاری و قارچ، بیشترین میزان عدد کلروفیل‌متر در زمان تنش کم‌آبیاری متوسط و شدید و عدم تلقیح با قارچ به‌ترتیب با میانگین‌های ۳۹/۱۰ و ۳۸/۷۴ بود. بیشترین افزایش اثر قارچ (حدود ۸/۵ درصد) مربوط به دور آبیاری دو روز بود (شکل ۸- الف). بررسی اثر متقابل قارچ تریکودرما و کیتوزان نشان داد که بیشترین میزان عدد اسپد با میانگین ۳۹/۰۳ در سطح ۰/۲ کیتوزان و در عدم حضور قارچ بود. تلقیح با قارچ در سطح ۰/۲ کیتوزان محتوای کلروفیل برگ را حدود ۱۳ درصد کاهش داد. بیشترین افزایش اثر قارچ (حدود پنج درصد) مربوط به سطح صفر کیتوزان بود (شکل ۸- ب).

نتایج بیانگر این است که با افزایش دور آبیاری، مقدار کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل کاهش پیدا کرد، در حالی میزان کاروتنوئید افزایش یافت. نتایج آزمایش عقلمند و همکاران (Aghlmand et al., 2017) روی گیاه ریحان نیز نشان‌دهنده کاهش کلروفیل *a* و *b* تحت تنش خشکی است که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. توضیح این که کاهش فتوسنتز تحت اثر افزایش دور آبیاری بدلیل اختلال در فرآیندهای شیمیایی مسیر فتوسنتزی است. هرچند فتوسیستم II تا حد زیادی نسبت به خشکی متحمل است، امّا تنش خشکی می‌تواند مانع انتقال الکترون در این نظام شود، از این رو از کارایی فتوسنتز کاسته می‌شود (Lashkari, 2013). علاوه‌براین در شرایط تنش، کمبود آب باعث تجزیه کلروفیل گردیده و گلوتامات که پیش‌ماده کلروفیل و پرولین است در اثر این تنش به پرولین تبدیل شده و در نتیجه، از محتوی کلروفیل کاسته می‌شود (Lawler & Cornic, 2002).

افزایش میزان کاروتنوئیدها در شرایط تنش نیز با توجه به نقش آن‌ها در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی برای محافظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل) قابل انتظار است. این افزایش در تنش خشکی شدید نشان‌دهنده نقش آن در تعدیل میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌باشد (Navabpour et al., 2015). از سویی دیگر، گزارش شده است که به‌دنبال تنش خشکی آناتومی برگ نیز تغییر یافته و برگ‌ها کوچک‌تر و ضخیم‌تر می‌شوند و در نتیجه، غلظت کلروفیل‌ها به‌ویژه کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها در واحد سطح برگ بیشتر می‌شود. بدین ترتیب، ممکن است میزان فتوسنتز در واحد سطح برگ کمتر تحت تأثیر قرار گیرد، امّا میزان فتوسنتز در برگ و کل گیاه کاهش می‌یابد (Kalantar Ahmadi et al., 2014).

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد، کاربرد کیتوزان به‌تنهایی کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل را کاهش داد، در حالی که باعث افزایش نسبت کلروفیل *a/b* شد. تلقیح با قارچ تریکودرما در شرایط تنش کم‌آبیاری و کاربرد کیتوزان توانست مقدار کلروفیل کل را افزایش دهد. افزایش کلروفیل در شرایط کاربرد کیتوزان، به اثرات مثبت ناشی از افزایش دسترسی به ترکیبات آمینواسیدی آزاد شده توسط کیتوزان ارتباط داده شده است (Chibu & Susuma, 2001). گزارش‌های متعددی در مورد تأثیر مثبت کیتوزان بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهانی همچون زنیان (*Carum cupticum* L.) (Khajeh & Naderi, 2014)، سویا و باقلا (*Vicia faba* L.) (Dzung et al., 2011)، بادام‌زمینی (*Arachis hypogaea* L.) و قهوه (Sheikha et al., 2009) ارائه شده است. برخی پژوهشگران بر

این باور هستند که مصرف کیتوزان با تأثیر روی ژن‌های مسئول سازنده کلروفیل، تولید کلروفیل را افزایش می‌دهد (Heng et al., 2012). گروهی از پژوهشگران نیز دریافتند که کیتوزان در افزایش کلروفیل و فتوسنتز نقش دارد و علاوه‌براین، اثبات کردند که کیتوزان بیان ژن کلروپلاست برگ را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Limpanavech et al., 2008).



شکل ۸- برهم‌کنش کم‌آبیاری و قارچ (آ) و قارچ و کیتوزان (ب) بر عدد SPAD در گیاه ریحان

Fig. 8- Interaction of deficit irrigation fungus (A) and fungus and chitosan (B) on SPAD number in basil plant

جدول ۷- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کم‌آبیاری، قارچ تریکودرما و کیتوزان بر عملکرد ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس گیاه ریحان

Table 7- Analysis of variance (mean of squares) for the effect of irrigation deficit, *Trichoderma* fungus, and chitosan on dry matter yield, percentage, and yield of basil plant essential oil

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean of squares		
		عملکرد ماده خشک Dry matter yield	درصد اسانس Essential oil percentage	عملکرد اسانس Essential oil yield
بلوک Block	2	13765.6	0.001	28.10*
کم‌آبیاری (D) Irrigation deficit	2	185763.1**	0.008*	245.29**
خطای اصلی Main error	4	4648.3	0.006*	49.19**
قارچ (F) Fungi	1	4423.5	0.043**	8.75
کیتوزان (C) Chitosan	2	20739.5	0.103**	215.60**
D×F	2	31326.7*	0.008*	36.62*
F×C	2	7091.1	0.007*	30.00*
D×C	4	20414.7*	0.116**	191.70**
D×F×C	4	58447.2**	0.042**	73.92**
خطای آزمایش Error	12	6164.3	0.001	6.89
ضریب تغییرات C.V (%)		17.78	8.95	21.15

*و**: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد.

*, **: are significant at 5 and 1%, respectively.

عملکرد ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده کم‌آبیاری بر عملکرد ماده خشک ریحان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل دوگانه کم‌آبیاری و قارچ و اثر متقابل کم‌آبیاری و کیتوزان در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شدند و اثر متقابل سه‌گانه تیمارها نیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبیاری، برای درصد اسانس در سطح احتمال پنج درصد و برای عملکرد اسانس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثر ساده قارچ تنها برای درصد اسانس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثر ساده کیتوزان برای هر دو در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه تیمارها برای درصد و عملکرد اسانس معنی‌دار شدند (جدول ۷).

برهم‌کنش سه‌گانه تیمارها نشان داد، بیشترین مقادیر عددی عملکرد ماده خشک ریحان با میانگین ۷۶۵/۶۰ گرم در مترمربع در شرایط آبیاری نرمال، تلقیح با قارچ تریکودرما و محلول‌پاشی سطح ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان به‌دست آمد. کمترین میزان عملکرد ماده خشک نیز با میانگین ۱۹۲/۸۰ گرم در مترمربع در شرایط تنش کم-آبیاری با دور سه روز، عدم تلقیح با قارچ و سطح صفر کیتوزان بود (جدول ۸). کاهش تولید ماده خشک گیاهی در شرایط کم‌آبی در گیاهان لوپن (*Lupinus albus* L.) (Agarwal et al., 2005)، بادام زمینی (Vurayai et al., 2011) و همیشه‌بهار (Waseem et al., 2010) نیز گزارش شده است. تأثیر افزاینده محلول‌پاشی کیتوزان بر رشد اندام‌هوایی گیاهان بامیه (*Hibiscus esculentus* L.) (Mondal et al., 2012)، سیر (*Allium sativum* L.) (Gupta & Kaur, 2005) و گندم (Zeng & Luo, 2012) در غلظت‌های ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان گزارش شده است.

براساس یافته‌های حاصل از اثر متقابل سه‌گانه تیمارها، بیشترین میزان درصد اسانس با میانگین ۰/۸۸ درصد در شرایط آبیاری نرمال، کاربرد قارچ تریکودرما و سطح صفر کیتوزان مشاهده شد. کمترین میزان آن با میانگین ۰/۲۲ درصد در همین شرایط، امّا در سطح ۰/۲ کیتوزان بود (جدول ۹). بیشترین میزان عملکرد اسانس نیز با میانگین ۴۲/۸۷ کیلوگرم در هکتار در شرایط آبیاری نرمال، کاربرد قارچ و سطح صفر کیتوزان بود. کمترین میزان آن با میانگین ۲/۲۵ کیلوگرم در هکتار در دور آبیاری سه روز، عدم کاربرد قارچ و در سطح صفر کیتوزان ثبت شد (جدول ۱۰). نتایج نشان داد که افزایش دور آبیاری به همراه کاربرد کیتوزان و تلقیح قارچ، درصد و عملکرد اسانس را افزایش داد. کیتوزان به همراه کاربرد قارچ تریکودرما درصد و عملکرد اسانس را افزایش داد، ولی با افزایش دور آبیاری، کیتوزان به‌تنهایی درصد و عملکرد اسانس را کاهش داد و فقط در دور آبیاری سه روز، درصد اسانس را نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۱۰). مشخص شده است که کاربرد کیتوزان به‌عنوان یک محرک گیاهی می‌تواند موجب تحریک سنتز و افزایش قابل ملاحظه متابولیت‌های ثانویه در گیاهان گردد (Sheikha et al., 2009).

جدول ۸- برهم‌کنش قارچ و کیتوزان بر عملکرد ماده خشک ریحان (گرم در مترمربع) در دورهای مختلف آبیاری

Table 8- Interaction of fungus and chitosan on dry matter yield of basil ($g.m^{-2}$) in different irrigation periods

قارچ Fungus	کیتوزان Chitosan levels ($g.l^{-1}$)	دور آبیاری (روز) Irrigation interval (Day)		
		2	3	4
شاهد Control	0	696.40	192.80	313.87
	0.2	655.20	445.20	262.80
	0.4	750.20	401.07	436.80
قارچ *Trichoderma* fungus	0	428.00	476.40	294.40
	0.2	484.40	297.60	629.87
	0.4	765.60	396.80	199.60
LSD (5%)			169.97	

جدول ۹- برهم‌کنش قارچ و کیتوزان بر درصد اسانس ریحان در دورهای مختلف آبیاری

Table 9- Interaction of fungus and chitosan on the percentage of basil essential oil in different irrigation periods

قارچ Fungus	کیتوزان Chitosan levels ($g.l^{-1}$)	دور آبیاری (روز) Irrigation interval (Day)		
		2	3	4
شاهد Control	0	0.56	0.32	0.48
	0.2	0.41	0.26	0.24
	0.4	0.38	0.82	0.30
قارچ *Trichoderma* fungus	0	0.88	0.33	0.34
	0.2	0.22	0.29	0.48
	0.4	0.43	0.85	0.62
LSD (5%)			0.12	

جدول ۱۰- برهم‌کنش قارچ و کیتوزان بر عملکرد اسانس ریحان (کیلوگرم در هکتار) در دورهای مختلف آبیاری

Table 10 - Interaction of fungus and chitosan on the yield of basil essential oil ($kg.ha^{-1}$) in different irrigation periods

قارچ Fungus	کیتوزان Chitosan levels ($g.l^{-1}$)	دور آبیاری (روز) Irrigation interval (Day)		
		2	3	4
شاهد Control	0	27.46	2.25	7.90
	0.2	13.05	8.34	4.54
	0.4	32.16	18.62	8.97
قارچ *Trichoderma* fungus	0	42.87	7.18	5.44
	0.2	7.11	6.57	13.06
	0.4	8.63	14.34	20.00
LSD (5%)			10.23	

گروهی از پژوهشگران گزارش کردند که کاربرد کیتوزان در شرایط تنش خشکی منجر به افزایش درصد و عملکرد اسانس در گیاه دارویی آویشن دنایی گردید و دلیل آن را نقش کیتوزان در فعال‌سازی ژن‌های جدید و مسیرهای بیوسنتزی مختلف در جهت تولید متابولیت‌های ثانویه برشمردند (Emami Bistgani et al., 2017). کاربرد قارچ تریکودرما، درصد و عملکرد اسانس را افزایش داد که با نتایج وفائی رستمی و همکاران (Vafaei Rostami et al., 2019) در گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) مطابقت داشت. خالوندی و همکاران (Khalvandi et al., 2017) بیان نمودند که تلقیح گیاه نعناع فلفلی با قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* سبب کاهش آثار منفی تنش بر عملکرد اسانس و وزن خشک این گیاه شده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از رشد گیاه ریحان در شرایط کم‌آبیاری، می‌توان نتیجه گرفت که رشد گیاه ریحان به شرایط کمبود آب حساس بوده و کاهش صفات رشدی از جمله طول ساقه، وزن خشک برگ، ساقه، ریشه و عملکرد ماده خشک را در پاسخ به شرایط کم-آبیاری به دنبال داشت؛ در حالی که طول ریشه بیشتر شد. همچنین با افزایش دور آبیاری، مقدار کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل کاهش پیدا کرد، امّا میزان کاروتنوئید بیشتر شد. تلقیح قارچ تریکودرما و کاربرد کیتوزان در شرایط کم‌آبیاری توانست مقدار کلروفیل کل را افزایش دهد. بیشترین میزان درصد و عملکرد اسانس در هر دو شرایط آبیاری نرمال و کم‌آبیاری با کاربرد قارچ تریکودرما و کیتوزان حاصل شد. در مجموع، محلول‌پاشی کیتوزان توانست اثرات مضر ناشی از کم‌آبیاری را در این گیاه کاهش داده و سبب بهبود رشد گیاه در این شرایط شود. محلول‌پاشی ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان در شرایط کم‌آبیاری چهار روز و همچنین تلقیح گیاه با قارچ تریکودرما توانست بهترین نتیجه را به همراه داشته باشد.

سپاسگزاری

به‌این‌وسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان برای اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Abdel-Mawgoud, A.M.R., Tantawy, A.S., El-Nemr, M.A., & Sassine, Y.N. (2010). Growth and yield responses of strawberry plants to chitosan application. *European Journal of Scientific Research*, *39*(1), 170-177.
2. Abdel-Monaim, M.F. (2013). Improvement of biocontrol of damping-off and root rot/wilt of faba bean by salicylic acid and hydrogen peroxide. *Mycobiology*, *41*(1), 47-55. https://doi.org/10.5941/MYCO.2013.41.1.47.
3. Adams, R.P. (2017). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. *Gruver, TX USA: Texensis Publishing*.
4. Agarwal, S., Sairam, R.K., Srivastava, G.C., & Meena, R.C. (2005). Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. *Biologia Plantarum*, *49*, 541-550. https://doi.org/10.1007/s10535-005-0048-z
5. Aghlmand, S., Poor Ismailpour, B., Jalilvand, P., Heidari, H.R., & Tavakoli Hassankloo, N. (2017). The effect of salicylic acid and paclobutrazol on growth and physiological traits of basil under water stress. *Journal of Plant Process and Function*, *6*(19), 35-46. (In Persian with English Summary)
6. Anith, K.N., Faseela, K.M., Archana, P.A., & Prathapan, K.D. (2011). Compatibility of *Piriformospora indica* and *Trichoderma harzianum* as dual inoculants in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Symbiosis*, *55*, 11-17. https://doi.org/10.1007/s13199-011-0143-1.
7. Arriagada, C., Aranda, E., Sampedro, I., Garcia-Romera, I., & Ocampo, J.A. (2009). Contribution of the saprobic fungi *Trametes versicolor* and *Trichoderma harzianum* and *the arbuscular mycorrhizal* fungi *Glomus deserticola* and *G. claroideum* to arsenic tolerance of *Eucalyptus globulus*. *Bioresource Technology*, *100*(24), 6250-6257. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.010.
8. Bae, H., Sicher, R.C., Kim, M.S., Kim, S.H., Strem, M.D., Melnick, R.L., & Bailey, B.A. (2009). The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in Theobroma cacao. *Journal of Experimental Botany*, *60*(11), 3279-3295. https://doi.org/10.1093/jxb/erp165.
9. Bazazi, N., Khodam Bashi, M., & Mohammadi, S. (2013). The effect of drought stress on morphological characteristics and yield components of fenugreek. *Production and Processing of Agricultural and Horticultural Products*, 11, 3-23. (In Persian with English Summary) https://doi.org/10.22092/ijmapr.2019.123365.2400.
10. Boonlertnirun, S., Boonraung, C., & Suvanasara, R. (2008). Application of chitosan in rice production. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, *18*(2).
11. Chibu, H., Shibayama, H., & Arima, S. (2002). Effects of chitosan application on the shoot growth of rice and soybean. *Japanese Journal of Crop Science*, *71*(2), 206-211. https://doi.org/10.1626/jcs.71.206.
12. Chmielewski, A.G., Migdal, W., Swietoslawski, J., Jakubaszek, U., & Tarnowski, T. (2007). Chemical-radiation degradation of natural oligoamino-polysaccharides for agricultural application. *Radiation Physics and Chemistry*, *76*(11-12), 1840-1842. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2007.04.013.
13. Clarke, J.M., & McCaig, T.N. (1993). Breeding for efficient root systems. In *Plant breeding: principles and prospects* (pp. 485-499). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1524-7_29.
14. Doni, F., Isahak, A., Che Mohd Zain, C.R., & Wan Yusoff, W.M. (2014). Physiological and growth response of rice plants (*Oryza sativa* L.) to Trichoderma spp. inoculants. *Amb Express*, *4*, 1-7. https://doi.org/10.1186/s13568-014-0045-8.
15. Dutta, P.K., Dutta, J., & Tripathi, V.S. (2004). Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications.
16. Dzung, N.A., Khanh, V.T.P., & Dzung, T.T. (2011). Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydrate Polymers*, *84*(2), 751-755. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.066.
17. El-Tantawy, E.M. (2009). Behavior of tomato plants as affected by spraying with chitosan and aminofort as natural stimulator substances under application of soil organic amendments. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, *12*(17), 1164-1173. https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.1164.1173.
18. Emami Bistgani, Z., Siadat, S.A., Bakhshandeh, A., Pirbalouti, A.G., & Hashemi, M. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*, *5*(5), 407-415. https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003.
19. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N.S.M.A., Fujita, D.B.S.M.A., & Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress:

effects, mechanisms and management. *Sustainable Agriculture*, 153-188. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_12.

20. Gerami, M., Majidian, P., Ghorbanpour, A., & Alipour, Z. (2020). *Stevia rebaudiana* Bertoni responses to salt stress and chitosan elicitor. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *26*(5), 965-974. https://doi.org/10.1007/s12298-020-00788-0.
21. Ghoname, A.A., El-Nemr, M.A., Abdel-Mawgoud, A.M.R., & El-Tohamy, W.A. (2010). Enhancement of sweet pepper crop growth and production by application of biological, organic and nutritional solutions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, *6*(3), 349-355.
22. Gupta, A.K., & Kaur, N. (2005). Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *Journal of Biosciences*, *30*, 761-776. https://doi.org/10.1007/BF02703574.
23. Hashem, A., Abd_Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Al Huqail, A.A., & Egamberdieva, D. (2014). Alleviation of abiotic salt stress in *Ochradenus baccatus* (Del.) by *Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bainier. *Journal of Plant Interactions*, *9*(1), 857-868. https://doi.org/10.1080/17429145.2014.983568.
24. Heng, Y., Frette, X.C., Christensen, L.P., & Grevsen, K. (2012). Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. hirtum). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(1), 136-143. https://doi.org/10.1021/jf204376j.
25. Hidalgo, L., Argelles, W., Peniche, C., Pino, M., & Terry, E. (1996). Effect of chitosan in seed treatment of tomato. *Revista de Protection Vegeta*, *11*(1), 37-39.
26. Hirano, S. (1996). Chitin biotechnology applications. *Biotechnology Annual Review*, *2*, 237-258. https://doi.org/10.1016/S1387-2656(08)70012-7.
27. Hussaini Begum, M., Taheri, G.H., Vaezi Kakhaki, M.R., & Tlaty, M. (2013). Foliar application of chitosan on growth and morphological characteristics of marigold (*Calendula officinalis*). *National Conference of Passive Defense in the Agricultural Sector, Ahvaz, Iran, 6 September 2013*. (In Persian with English Summary).
28. Iriti, M., & Faoro, F. (2009). Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. *Plant Signaling & Behavior*, *4*(1), 66-68. https://doi.org/10.4161/psb.4.1.7408.
29. John, R.P., Tyagi, R.D., Prevost, D., Brar, S.K., Pouleur, S., & Surampalli, R.Y. (2010). Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. *Crop Protection*, *29*(12), 1452-1459. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.08.004.
30. Kaewchai, S., Soytong, K., & Hyde, K.D. (2009). Mycofungicides and fungal biofertilizers. *Fungal Diversity*, 38, 25-50.
31. Kalantar Ahmadi, S.A., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S., Daneshian, J., & Siadat, S.A. (2014). Effects of water stress and nitrogen on changes of some amino acids and pigments in canola. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 4, 114-122. (In Persian with English Summary).
32. Kapoor, R., Giri, B., & Mukerji, K.G. (2004). Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*, *93*(3), 307-311. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.028.
33. Khajeh, H., & Naderi, S. (2014). The effect of chitosan on some antioxidant enzyme activity and biochemical traits of Melissa. *Journal of Crop Science in Dry Areas*, 1, 100-116. (In Persian with English Summary).
34. Khalvandi, M., Amerian, M., Pirdashti, H., & Baradaran Firouzabadi, M., & Gholami, A. (2017). Effect of *Piriformospora indica* on the quantity of essential oil and some physiological traits of peppermint in salinity stress. *Plant Biology*, *9*(32), 2-19. (In Persian with English Summary)
35. Kiani, S. P., Maury, P., Sarrafi, A., & Grieu, P. (2008). QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. *Plant Science*, *175*(4), 565-573. http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.06.002.
36. Labra, M., Miele, M., Ledda, B., Grassi, F., Mazzei, M., & Sala, F. (2004). Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. *Plant Science*, *167*(4), 725-731. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.04.026.
37. Larcher, W. (2001). Physiological plant ecology. *Springer verlage Berlin Heidelberg NewYork, Germany*. 513 pp.
38. Lashkari, F. (2013). The effect of polymer and superabsorbent, potassium and animal manure on quantitative and qualitative characteristics of *Carla medicinal* plant in different irrigation cycles. *Master Thesis in Agriculture*,

Faculty of Agriculture, Zabol University, Iran. (In Persian with English Summary)

39. Lawlor, D.W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell & Environment*, *25*(2), 275-294. https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x.
40. Levitt, J. (1980). *Responses of Plants to Environmental Stress, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses*. Academic Press.497 pp.
41. Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., & Bangyeekhun, T. (2008). Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the Dendrobium orchid. *Scientia Horticulturae*, *116*(1), 65-72. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.10.034.
42. Mahdavi, B., Modares Sani, A.M., AghaAlikhani, M., & Sharifi, M. (2010). The effect of chitosan and water stress on morphological characteristics and root characteristics of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *The 11th Congress of Agricultural Sciences and Plant Breeding*, *Tehran, Iran, 24 July 2010*. (In Persian with English Summary)
43. Malekpour, F., Salimi, A., & Ghasemi Pirblouti, A. (2015). The effect of chitosan biostimulant on physiological traits of purple basil under dehydration stress. *Journal of Plant Ecophysiology 8*(27), 71-56. (In Persian with English Summary).
44. Mrkovacki, N., Marinković, J., Cacic, N., & Bjelic, D. (2010). Microbial abundance in rhizosphere of sugarbeet in dependance of fertilization and inoculation with azotobacter chroococcum. *Research Journal of Agricultural Science*, *42*(3), 260-264.
45. Mohammadi Kashka, F., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y., & Bahari Sarvai, S. H. (2016). Coexistence of *Trichoderma virens* and *Piriformospora indica* with bacteria. *Enterobacter sp* on vegetative growth and photosynthetic pigments of pepper plant (*Capsicum annuum* L.). *Scientific Journal of Plant Ecophysiology*, *8*(26),: 121-133. (In Persian with English Summary)
46. Mohammadi, A., Ebrahimzadeh, H., Hadian, J., & Mir Masoumi, M. (2015.) Analysis of the effect of drought stress on some physiological and biochemical parameters of *Lippia citriodora* HBK. *Journal of Plant Research*, *28*(3), 617-628. (In Persian with English Summary).
47. Mondal, M.M., Malek, M.A., Puteh, A.B., Ismail, M.R., Ashrafuzzaman, M., & Naher, L. (2012). Effect of foliar application of chitosan on growth and yield in okra. *Australian Journal of Crop Science*, *6*(5), 918-921.
48. Morello, J.R., Romero, M.P., Ramo, T., & Motilva, M.J. (2005). Evaluation of L-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea* L.) from fruit setting period to harvesting time. *Plant Science*, *168*(1), 65-72. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.013.
49. Navabpour, S., Ramezanpour, S.S., & Mazandarani, A. (2015). Evaluation of changes in enzymatic and non-enzymatic defense systems of soybean cultivars in response to drought stress during reproductive development. Bi-Quarterly *Journal of Plant Production Technology*, *7*(2), 39-54. (In Persian with English Summary)
50. Nouri Akandi, Z., Makarian, H., Pirdashti, H., Amerian, M.R., Firoozabadi Brothers, M., & Tajik Ghanbari, M.A. (2020). The effect of some symbiotic fungi and iron nanoparticles on morphological and physiological parameters of *Portulaca oleracea* L. under cadmium stress. *Scientific Journal of Garden Nutrition*, *3*(1), 1-22. (In Persian with English Summary). https://doi.org/10.22070/hpn.2020.5242.1075.
51. Porra, R.J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, *73*, 149-156. https://doi.org/10.1023/A:1020470224740.
52. Ramos-Garcia, M., Ortega-Centeno, S., Hernández-Lauzardo, A.N., Alia-Tejacal, I., Bosquez-Molina, E., & Bautista-Baños, S. (2009). Response of gladiolus (*Gladiolus* spp) plants after exposure corms to chitosan and hot water treatments. *Scientia Horticulturae*, *121*(4), 480-484. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.03.002.
53. Sajjadi, S.E. (2006). Analysis of the essential oils of two cultivated basils (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, *14*(3), 128-130.
54. Salehi, S., & Rezayatmand, Z. (2017). The effect of foliar application of chitosan on yield and essential oil of savory (*Saturejaisophylla* L.) under salt stress. *Journal of Medicinal Herbs*, *8*(2), 101-108. https://doi.org/10.18869/JHD.2017.101.
55. Salimi, G.H., Faizian, M., & Ali Asgharzad, N. (2020). The effect of mycorrhiza inoculation on nutrient uptake

and essential oil components of *Dracocephalum moldavica* L. under drought stress. *Scientific Journal of Crop Ecophysiology, 14*(3): 325-344. (In Persian with English Summary)

56. Sallam, N.M., Abo-Elyousr, K.A.M., & Hassan, M.A.E. (2008). Evaluation of *Trichoderma* species as biocontrol agents for damping-off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula. *Egypt. J. Phytopathol*, *36*(1-2), 81-93.
57. Sharma, P., Patel, A.N., Saini, M.K., & Deep, S. (2012). Field demonstration of *Trichoderma harzianum* as a plant growth promoter in wheat (*Triticum aestivum* L). *Journal of Agricultural Science*, *4*(8), 65. https://doi.org/10.5539/jas.v4n8p65.
58. Sheikha, S.A., & Al-Malki, F.M. (2011). Growth & chlorophyll responses of bean plants to the chitosan applications. *European Journal of Scientific Research*, *50*(1), 124-134.
59. Shukla, N., Awasthi, R.P., Rawat, L., & Kumar, J. (2012). Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, *54*, 78-88. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.02.001.
60. Sodaizadeh, H., Shamsai, M., Tajmalian, M., Mir Mohammadi Meybodi, S.A.M., & Hakimzadeh, M.A. (2016). The effect of drought stress on some morphological and physiological traits of savory (*Satureja hortensis* L.). *Plant Process and Function*, *5*(15), 1-12. (In Persian with English Summary)
61. Taghavi Ghasemkheili, F., Pirdashti, H., Tajik Qanbari, M.A., & Bahmaniar, M.A. (2014). The effect of *Trichoderma harzianum* and cadmium on barley tolerance and yield index (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*, *8*(4), 465-482. (In Persian with English Summary)
62. Taghinasab Darzi, M. (2012). The effect of some isolates of *Trichoderma* spp. On increasing the growth of cucumber seedlings. *Science and Technology of Greenhouse Cultivation*, *1*(3), 63-70. (In Persian with English Summary)
63. Uthairatanakij, A., Teixeira da Silva, J.A., & Obsuwan, K. (2007). Chitosan for improving orchid production and quality. *Orchid Science and Biotechnology*, *1*(1), 1-5.
64. Vafaei Rostami, S., Abbasi, R., Pirdashti, H., & Qajar Spanloo, M. (2019). The effect of *Piriformospora indica* and *Trichoderma harzianum* on morphological traits and yield of peppermint essential oil (*Mentha piperita*) at different levels of phosphorus and irrigation. *Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production*, *29*(4), 37-50. (In Persian with English Summary).
65. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Woo, S.L., & Lorito, M. (2008). Trichoderma–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, *40*(1), 1-10. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002.
66. Vurayai, R., Emongor, V., & Moseki, B. (2011). Effect of water stress imposed at different growth and development stages on morphological traits and yield of Bambara Groundnuts (*Vigna subterranea* L. Verdc). *American Journal of Plant Physiology*, *6*(1), 17-27.
67. Waseem, S., Majeed, H., Naveed, I., Kayani, W.K., Ahmed, H., Hussain, S., & Kamal, A. (2010). Pharmacognostical study of the medicinal plant *Calendula officinalis* L. (family Compositae). *International Journal of Cell & Molecular Biology*, *1*(2), 108-116.
68. Willmer, C.M., & Pricker, M. (1996). Stomata. (2nd Edn), Chapman and Hall, London, 375 pp.
69. Yagubian, Y., Pirdashti, H., Mohammadi GolTappeh, A., Faiziasl, V., & Esfandiari, A. (2012). Evaluation of dryland wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivar Azar 2 to coexistence with arbuscular and mycorrhizal fungi at different levels of drought stress. *Journal of Agricultural Ecology*, *4*(1), 63-73. (In Persian with English Summary) https://doi.org/10.22067/jag.v4i1.14960.
70. Yang, F., Hu, J., Li, J., Wu, X., & Qian, Y. (2009). Chitosan enhances leaf membrane stability and antioxidant enzyme activities in apple seedlings under drought stress. *Plant Growth Regulation*, *58*, 131-136. https://doi.org/10.1007/s10725-009-9361-4
71. Zeng, D., & Luo, X. (2012). Physiological effects of chitosan coating on wheat growth and activities of protective enzymes with drought tolerance. *Journal of Soil Science*, *2*(3), 282-288. http://dx.doi.org/10.4236/ojss.2012.23034.
72. Zhili, J., Yong, L., Juanjuan, L., Xu, X., Li, H., Lu, D., & Jingying, W. (2012). Effects of exogenous chitosan on physiological characteristics of potato seedlings under drought stress and rehydration. *Potato Research*, 55, 293-

301. https://doi.org/10.1007/s11540-012-9223-8.

73. Ziaei, M., Sharifi, M., Naqdi Badi, H., Academic, J., & Ghorbani Nahuji, M. (2014). A review of the medicinal plant basil (*Ocimum basilicum* L.) with emphasis on the main secondary compounds and its agronomic and medicinal properties. *Quarterly Journal of Medicinal Plants, 13*(4), 26-41. (In Persian with English Summary).