

تأثیر قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار بر رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی و عملکرد اسانس *Thymus vulgaris* L. در شرایط تنش عنصر سنگین سرب

رویا رستمی^۱، بهروز اسماعیل‌پور^{۲*}، سید احمد حسینی^۳، قباد سلیمی^۴ و علیرضا اطمینان^۵

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، پست الکترونیک: behsmaiel@yahoo.com

۳- استادیار، گروه محیط‌زیست، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۴- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۵- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۰

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۹

چکیده

به منظور بررسی اثرات قارچ‌های میکوریز بر خصوصیات رشد، فیزیولوژی و عملکرد اسانس گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) در شرایط تنش سرب، یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف فلز سنگین سرب (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm) و تلقیح با قارچ میکوریزا (بدون تلقیح، تلقیح با *Funneliformis mosseae* و *Claroideoglossum etunicatum*) بودند. نتایج نشان داد که در مقایسه با شاهد، با افزایش غلظت سرب در خاک ارتفاع گیاه (۴۰/۵۶٪)، تعداد برگ (۳۶/۰۹)، درصد وزن خشک ساقه (۴۳/۵۰٪)، درصد اسانس (۴۰٪) و ثبات غشای سلولی (۱۶/۱۴٪) در گیاه به طور معنی‌داری کاهش یافتند در حالی که میزان پرولین (۵۱/۷۲٪) و فعالیت کاتالاز (۴۵٪) برگ افزایش یافتند. تلقیح گیاه آویشن با قارچ میکوریزا در افزایش شاخص‌های رویشی در حضور عنصر سنگین سرب مؤثر بود به طوری که هر دو گونه قارچ *F. mosseae* و *C. etunicatum* تعداد برگ را به ترتیب ۶۶/۲۰ و ۹/۵۵٪ نسبت به شاهد افزایش دادند. همچنین، تلقیح با قارچ *F. mosseae* در شرایط تنش شدید سرب (۴۰۰ ppm)، میزان پرولین برگ (۱۱٪/۴۹)، فعالیت آنزیم پراکسیداز (۸٪/۸)، کلروفیل *b* (۲۱٪)، کلروفیل کل (۷۰/۴۳٪)، کاروتنوئید (۱۹/۶٪) و درصد اسانس (۵۵٪) را نسبت به شاهد افزایش داد. به طور کلی، هر دو گونه قارچ میکوریزا در رفع اثرات سمیت سرب مؤثر بودند و *F. mosseae* از عملکرد بهتری به‌ویژه در مورد صفات مورفولوژیک و عملکرد اسانس برخوردار بود. با توجه به اثرات منفی عناصر سنگین در سلامت انسان، توصیه استفاده از قارچ‌های میکوریزی برای کاهش جذب فلزات سنگین در گیاهان باید با رعایت بیشتر همه جوانب از جمله نوع گونه قارچ و گیاه و حجم و نوع آلودگی صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، پرولین، رشد، سمیت، صفات مورفولوژیک.

مقدمه

آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) گیاهی دارویی از خانواده نعناعیان است که دارای خاصیت بادشکن، ضدقارچ و باکتری، ضداسپاسم، ضدعفونی‌کننده و آنتی‌اکسیدان است. تیمول و کارواکرول از عمده‌ترین مواد موجود در اسانس این گیاه هستند. همچنین اسانس آویشن در نوشیدنی‌ها و صنایع دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده می‌شود (Mozaffarian, 2013).

ایجاد آلودگی زمین‌های کشاورزی توسط کارخانجات صنعتی و کاربرد بیش از حد کودهای شیمیایی، آبیاری با فاضلاب، تخلیه نامناسب پسماندها سبب تجمع فلز سنگین سرب در خاک و تهدید امنیت غذایی انسان شده است (Gottesfeld et al., 2018; Alloway & Alloway, 2010). سرب با وارد شدن به زنجیره غذایی باعث ایجاد خطر برای انسان می‌گردد. سرب در بدن انسان به شکل Pb^{+2} جذب و به‌طور عمده در استخوان‌ها، کلیه و کبد تجمع می‌یابد و سبب بروز انقباض‌های عضلانی و کم‌خونی، بی‌خوابی، یبوست و کاهش اشتها می‌شود (Luo et al., 2020).

غلظت زیاد سرب در گیاهان سبب ممانعت از جوانه‌زنی بذر، کاهش رشد ساقه، ریشه و برگ، فتوسنتز و تنفس موجب کاهش زیست‌توده در گیاهان ذرت (*Zea mays*) (Pidatala et al., 2018)، گشنیز (*Coriandrum sativum*) (Fatemi et al., 2020)، شوید (*Antheum graveolens*) (Rahbari et al., 2020) و چمن شور (*Aehuopus*) (Jayakumar et al., 2007) جذب زیاد سرب در گیاه می‌تواند به‌دلیل رقابت مستقیم این عنصر با کلسیم (Wojas et al., 2007) موجب ناپایدار شدن غشای سلولی و انتشار محتویات درون سلول (الکترولیت) به خارج شود (Bafeel, 2010). همچنین قرارگرفتن گیاهان در معرض فلزات سنگین سبب تجمع انواع مختلف اکسیژن‌های واکنش‌گر و ایجاد تنش اکسیداتیو و تغییر در ترکیب لیپیدی غشاهای سلولی می‌گردد (Wu & Xia, 2006).

میکوریز آربوسکولار، رایج‌ترین نوع همزیستی

مسالمت‌آمیز بین میکروارگانیسم‌های خاکری و تقریباً حدود ۸۰٪ از گونه‌های گیاهی است (Hildebrandt et al., 2007). قارچ میکوریز از میکروارگانیسم‌های مورد استفاده زیست‌پالایی است که در این روش میکروب‌ها یا دیگر سیستم‌های زیستی برای تخریب و یا تغییر شکل آلاینده‌های زیست محیطی سالم به زیر حد غلظت آستانه ایفای نقش می‌کنند (Farshian et al., 2007). همزیستی با قارچ‌های میکوریز در پسته (Rohani et al., 2019)، کاهو (Farshian et al., 2007) و رزماری (Tabrizi et al., 2015) موجب افزایش رشد این گیاهان در خاک‌های آلوده به فلز سنگین شد. تأثیر قارچ‌های میکوریز در کاهش اثرهای تنش عناصر سنگین را می‌توان در کاهش جذب این عناصر (Hu et al., 2014) از طریق اتصال فلز سنگین به کینتین دیواره سلولی قارچ (Hildebrandt et al., 2007) و ترشح یک گلیکوپروتئین نامحلول گلومالین (Yang et al., 2015)، رقیق کردن آنها (Hu et al., 2013)، کاهش تنش اکسیداتیو (Farshian et al., 2007) و افزایش جذب عناصر معدنی (Bolandnazar et al., 2007) مرتبط دانست.

آلودگی به عنصر سنگین سرب سبب کاهش شدید عملکرد محصولات کشاورزی و بروز مشکلات جدی در کشاورزی و زیست محیطی نیز می‌شود. تحقیقات در زمینه حذف و کاهش اثرهای عناصر سنگین از جمله سرب با استفاده از فرایندهای فیزیکی و شیمیایی و زیستی در حال پیشرفت است. بنابراین، با توجه به اهمیت اقتصادی گیاه آویشن و کاربرد آنها از نظر دارویی و باغبانی، در این تحقیق تأثیر قارچ‌های میکوریز بر خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی گیاه آویشن در شرایط تنش سرب مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای بررسی تأثیر تلقیح با قارچ میکوریز بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه آویشن تحت تنش عنصر سرب، یک آزمایش به‌صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در

و فشار ۱/۵ بار) سترون گردید و به داخل گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر (۶ کیلوگرم در هر گلدان) منتقل شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن شامل بافت خاک به روش هیدرومتری، میزان ماده آلی به روش الکی بلاک، هدایت الکتریکی خاک با روش عصاره گل اشباع با دستگاه EC متر، pH با روش عصاره گل اشباع با دستگاه pH متر و میزان عناصر در نمونه‌های خاک اندازه‌گیری شدند. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول ۱ آمده است.

گلخانه پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۷ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش سرب در سه سطح (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm) به شکل کلرید سرب و تلقیح با قارچ میکوریزا (بدون تلقیح، تلقیح با *Funneliformis mosseae* و *Claroideoglossum etunicatum*) بود.

در این پژوهش، ابتدا خاک مناسب از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری از مزارع اطراف شهر اردبیل برای کشت آویشن تهیه شد. نمونه‌های خاک، پس از هواخشک شدن و عبور از الک ۲ میلی‌متری به‌طور یکنواخت مخلوط و بعد به مدت چهار ساعت در داخل اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس

جدول ۱- برخی خصوصیات مهم فیزیکوشیمیایی خاک

Table 1. Some important physicochemical properties of soil

EC (dS.m ⁻¹)	pH	O.C. (%)	N (%)	K (%)	P (%)	Soil texture	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)
3.2	7.6	0.524	0.1	0.07	3.4	Sandy loam	14	34	55

اندازه‌گیری شد و میزان سرب در نمونه‌های خاک بدون آلودگی و آلوده شده با غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm سرب به ترتیب ۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm بود.

اندازه‌گیری صفات

داده‌برداری از گیاهان حدود چهار ماه بعد از کاشت انجام شد و خصوصیات مورفولوژی گیاه (تعداد برگ، تعداد ساقه، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و سطح برگ با دستگاه سطح‌سنج مدل ADC ساخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد. وزن خشک ریشه‌ها و اندام هوایی پس از شستشو و خشک شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردید (Rahbari et al., 2020).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، شامل کلروفیل a و b و کلروفیل کل، ۰/۱ گرم از بافت تر گیاهی در داخل

برای اعمال تنش سرب، خاک در گلدان‌های پلاستیکی ریخته شد و با استفاده از محلول نمک کلرید سرب با غلظت‌های (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm) و در شرایط رطوبتی ۷۵٪ ظرفیت زراعی آغشته شد و به مدت چهار ماه در شرایط تر و خشک قرار گرفتند (هر سه روز یک‌بار خاک پس از خشک شدن با آب مقطر مرطوب شد). در زمان کشت، حدود ۷۰ گرم از زاد مایه قارچ‌های *F. mosseae* و *C. etunicatum* که از گروه خاک‌شناسی دانشگاه تبریز تهیه شده بود، زیر ریشه گیاه در گلدان‌ها اضافه شد. گیاهان به مدت چهار ماه در گلخانه با ۱۶ ساعت و ۸ ساعت تاریکی و دمای حداکثر ۲۸ و حداقل ۱۸ درجه سانتی‌گراد، نگهداری شدند. پس از پایان این مرحله، برای اطمینان از آلوده شدن خاک‌ها نمونه‌برداری انجام و مقدار ۲/۵ گرم خاک خشک الک شده (از الک ۰/۵ میلی‌تری) داخل ارلن ۲۵۰ میلی‌متری ریخته، سپس ۲۵ میلی‌لیتر استات آمونیوم یک نرمال به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه شیکر گردید و بعد با کاغذ صافی صاف شده و عصاره آماده شد و مقدار سرب در نمونه‌های خاک توسط دستگاه جذب اتمی

اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ مگاپاسکال به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد و دوباره در طول موج ۲۸۰ نانومتر قرائت انجام شد (L_0). برای محاسبه نشت غشاء از فرمول زیر استفاده شد (Redmann *et al.*, 1986).

$$100 \times \frac{L_t}{L_0} = \text{نشت مواد محلول (\%)}$$

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول

برای سنجش میزان کربوهیدرات، ابتدا عصاره الکلی از برگ‌ها تهیه شد. بدین منظور ۰/۱ گرم نمونه برگ با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ در هاون چینی کاملاً سائیده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از جدا شدن عصاره الکلی حاوی قندهای محلول و قسمت پایینی همراه با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ دوباره برای تکرار عصاره‌گیری به بن‌ماری منتقل شد. عصاره بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. قسمت شفاف بالایی جدا شده و برای اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله بعد، ۳ میلی‌لیتر از محلول آنترون (با فرمول $C_{14}H_{10}O$ و وزن مولکولی ۱۹۴/۲۳ خریداری شده از شرکت مرک آلمان و با خلوص ۹۸٪) به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و مقدار قند محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Irigoyen *et al.*, 1992).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

برای این منظور، ابتدا عصاره پروتئینی برگ استخراج شد، سپس ۰/۰۵ از بافت برگ با یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار $pH=6/8$ در یک هاون چینی و در حمام یخ هموژنیزه شد. هموژنات حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۷۶۰۰

هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ سائیده شد و محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و مقدار کلروفیل در محلول رویی صاف شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مقدار جذب نوری محلول‌ها در طول موج ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت و مقدار کلروفیل a و b براساس روابط زیر محاسبه شد (Arnon *et al.*, 1967).

$$Chla = (A_{663}/2) - (A_{645}/2) - (A_{646}/2)$$

$$Chb = (A_{663}/2) - (A_{646}/2)$$

در این فرمول‌ها، $Chla$ و $Chlb$ به ترتیب غلظت کلروفیل a و کلروفیل b است.

پرولین

برای اندازه‌گیری میزان پرولین حدود ۰/۵ گرم از برگ جوان در ۲ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک سائیده شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس یک میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک گلیسالیسالیک خالص به یک میلی‌لیتر از عصاره حاصل افزوده شد و یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار گرفت و پس از اضافه کردن ۲ میلی‌لیتر تولوئن به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. پس از تشکیل دو مرحله جداگانه، مرحله رنگی بالایی با دقت جدا و مقدار جذب در طول موج ۵۲۵ نانومتر قرائت شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن بدست آمد (Bates *et al.*, 1973).

شاخص پایداری غشاء

برای این منظور دیسک‌هایی از برگ کاملاً توسعه یافته تهیه و سه بار با آب دیونیزه شسته شده و در ظروف سر بسته حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی شیکر تکان داده شد. سپس نمونه‌ها بعد از قرائت در طول موج ۲۸۰ نانومتر (L_1) در

قطعه‌ها از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به‌طور تصادفی روی ظرف پتری شبکه‌بندی شده با ابعاد $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ قرار گرفتند و تعداد خطوط متقاطع کلنیزه شده به‌وسیله بینی‌کولار شمارش و درصد کلونیزاسیون تعیین شد (Kormanik & McGraw., 1982).

اسانس‌گیری

برداشت اندام هوایی برای اسانس‌گیری در مرحله گلدهی کامل انجام شد و نمونه‌های گیاهی برداشت شده در سایه و در دمای اتاق خشک شدند. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر و در مدت سه ساعت انجام شد و عملکرد اسانس برحسب میلی‌لیتر در گلدان محاسبه شد.

اندازه‌گیری سرب در گیاه

نمونه‌های برگ‌ی تهیه شده از هر تیمار به مدت ۴۸ ساعت در آن با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده، سپس به‌صورت یکنواخت پودر شدند. یک گرم از نمونه پودر شده در بوته چینی ریخته و در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت قرار داده شد. پس از سرد شدن، نمونه‌های خاکستر شده از کوره خارج شده و مقدار 10 cc اسیدکلریدریک ۲ نرمال به آن اضافه کرده و با حرارت ملایم هیتر مواد خاکستر شده با اسید حل شدند. محلول از قیف و کاغذ صافی (واتمن ۴۲) عبور داده شد و در بالون ۵۰ میلی‌لیتر ریخته شد. میزان سرب موجود در عصاره‌های تهیه شده از شاخساره و ریشه به‌طور جداگانه توسط دستگاه جذب اتمی GBC ساخت کشور استرالیا، مدل Avanta P قرائت گردید (Rahbari et al., 2020).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از این آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS 9.1 تجزیه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD

دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت به‌عنوان عصاره پروتئینی برگ برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین‌های محلول و بررسی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز مورد استفاده قرار گرفت (Huang et al., 2014).

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز ۳ میلی‌لیتر محلول واکنش استفاده شد که شامل $2/79$ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار $\text{pH}=7$ ، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول $0/6$ مولار، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسیدهدروژن، $1/2$ مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب محلول واکنش در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم براساس میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Kar & Mishra, 1976). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی را به ۴۹۵ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم حاوی EDTA $0/1$ میلی‌مولار و آب اکسیژنه ۱۰ میلی‌مولار افزوده و منحنی تغییرات در طول موج ۴۲۵ نانومتر ثبت شد. فعالیت آنزیمی به‌صورت تغییرات جذب بر زمان در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر جنوای ۶۷۰۵ به مدت یک دقیقه ثبت گردید. فعالیت آنزیمی با استفاده از فرمول قانون بیر لامبرت و ضریب خاموشی $40\text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ بر حسب $\mu\text{Mol.g FW.min}$ محاسبه شد (Maehly & Chance, 1955).

درصد کلونیزاسیون ریشه

برای رنگ‌آمیزی ریشه‌ها، ابتدا نمونه‌های ریشه در محلول اسید استیک-الکل-فرمالین تثبیت شده و بعد چندین بار شستشو داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در لوله‌های حاوی محلول هیدروکسیدپتاسیم ۱۰٪ در دمای محیط قرار گرفتند. سپس ریشه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول تازه آب اکسیژنه قلیایی نگهداری و بعد در محلول اسید آنکوبه شده و در نهایت در محلول رنگی شامل تریپان بلو $0/05$ ٪ رنگ‌آمیزی و به محلول رنگ‌بر اسید لاکتیک: گلیسرین: آب با نسبت حجمی ۱:۱:۱ منتقل و در نهایت در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند و بعد

در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج

تعداد برگ

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سرب و تلقیح با قارچ میکوریز بر تعداد برگ معنی‌دار بود ولی اثر متقابل این دو فاکتور روی این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۲). با افزایش غلظت سرب در خاک، تعداد برگ در گیاه آویشن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین تعداد

برگ (۸۵/۵۶) در خاک بدون آلودگی سرب (تیمار شاهد) حاصل شد و کمترین مقدار (۵۴/۶۸) نیز در خاک با غلظت بالای سرب (۴۰۰ ppm) بدست آمد (جدول ۳). تلقیح با دو گونه از کود زیستی قارچ میکوریزا در افزایش تعداد برگ مؤثر بود، به‌طوری که بیشترین تعداد برگ (۶۵/۴۳) در تلقیح گیاه آویشن با قارچ *F. mosseae* بدست آمد و کمترین مقدار برای این صفت در تیمار شاهد (بدون تلقیح با قارچ میکوریزا) حاصل شد (جدول ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر قارچ میکوریز بر خصوصیات مورفولوژیک آویشن باغی در شرایط تنش سرب

Table 2. ANOVA of mycorrhizal fungus effects on morphological characteristics of thyme (*Thymus vulgaris* L.) under lead stress conditions

Source of variation	d.f.	Number of leaves	Plant height	Shoot dry weight	Root dry weight	Essential oil percentage	Essential oil yield
Lead stress	2	4.43**	57.26**	0.37**	0.23**	0.018**	0.061**
Mycorrhizal fungus	2	2.34**	3.76**	0.01**	0.03**	0.031**	0.022**
Lead × Mycorrhizal fungus	4	0.08 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.002**	0.002**	0.0039**	0.0035**
Error	48	0.24	0.1	0.0006	0.0003	0.00007	0.0008
C.V. (%)		9.98	1.73	4.58	3.9	6.16	6.27

ns, *, and **: no significant difference and significant difference at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

ارتفاع گیاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش سرب و تلقیح با قارچ میکوریز بر ارتفاع گیاه معنی‌دار بود اما اثر متقابل سرب × تلقیح با قارچ میکوریز معنی‌دار نبود (جدول ۲). ارتفاع گیاه در شرایط تنش سرب کاهش می‌یابد. به‌طوری که بیشترین میزان ارتفاع گیاه (۳۰/۲ سانتی‌متر) در

شرایط عدم کاربرد سرب بدست آمد و کمترین ارتفاع گیاه (۱۷/۹۵ سانتی‌متر) در گیاهان پرورش یافته در خاک حاوی ۴۰۰ ppm سرب بدست آمد (جدول ۳). تلقیح گیاه با قارچ موجب افزایش ارتفاع شد و بیشترین ارتفاع گیاه (۱۹/۲۵ سانتی‌متر) در تلقیح با قارچ *F. mosseae* حاصل شد (جدول ۴).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تنش سرب بر شاخص‌های مورفولوژیک آویشن باغی

Table 3. Means comparison of lead stress effects on morphological characteristics of *Thymus vulgaris*

Lead (ppm)	Number of leaves	Plant height (cm)
Control	85.56a*	30.2a
200	75.18b	26.92b
400	54.68c	17.95c

*In each column, the means with at least one common letter are not significantly different (LSD test) at 5% probability level.

وزن خشک ریشه و ساقه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۲) که

وزن خشک ریشه و ساقه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سرب و قارچ و اثر متقابل این دو فاکتور قرار گرفتند.

بیشترین وزن خشک ریشه (۲/۹۴ گرم) و ساقه (۴۰/۶۹ گرم) در شرایط بدون تنش ۴۰۰ppm سرب و بدون تلقیح با قارچ میکوریزا حاصل شد (جدول ۵).
 قارچ *F. mosseae* بدست آمد و کمترین وزن خشک ساقه

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر قارچ‌های میکوریزا بر شاخص‌های مورفولوژیک آویشن باغی

Table 4. Means comparison of mycorrhizal fungi effects on morphological characteristics of *Thymus vulgaris*

Treatment	Number of leaves	Plant height (cm)
Control	41.5c*	21.13c
<i>C. etunicatum</i>	50.93b	27.38b
<i>F. mosseae</i>	65.43a	29.25a

*In each column, the means with at least one common letter are not significantly different (LSD test) at 5% probability level..

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر قارچ‌های میکوریزا بر شاخص‌های مورفولوژیک و عملکرد اسانس آویشن باغی در شرایط تنش سرب

Table 5. Means comparison of mycorrhizal fungi effects on morphological indices and essential oil yield of *Thymus vulgaris* under lead stress conditions

Lead	Mycorrhizal fungus	Stem DW (g)	Root DW (g)	Percentage of essential oil	Essential oil yield (mL.pot ⁻¹)
Control	Control	32.66c*	2.49c	1.75cd	0.571cd
	<i>C. etunicatum</i>	36.71b	2.61b	1.95bc	0.715b
	<i>F. mosseae</i>	40.69a	2.94a	2.3a	0.935a
200ppm	Control	23.63g	2.08g	1.4e	0.330e
	<i>C. etunicatum</i>	26.72e	2.36d	1.65d	0.440d
	<i>F. mosseae</i>	30.65d	2.61b	2.05b	0.643c
400ppm	Control	18.45i	1.68h	1.05f	0.193f
	<i>C. etunicatum</i>	21.45h	2.11f	1.45e	0.311e
	<i>F. mosseae</i>	25.48f	2.22e	1.85c	0.471d

*In each column, the means with at least one common letter are not significantly different (LSD test) at 5% probability level.

درصد اسانس

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که درصد اسانس در گیاه آویشن به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش سرب و تلقیح با قارچ میکوریزا و اثر متقابل این دو فاکتور قرارگرفت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش سرب و تلقیح با دو گونه قارچ میکوریزا بر درصد اسانس آویشن باغی نشان داد که با افزایش غلظت سرب در خاک، درصد اسانس در گیاه آویشن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و تلقیح با قارچ میکوریزا باعث افزایش درصد اسانس شد و

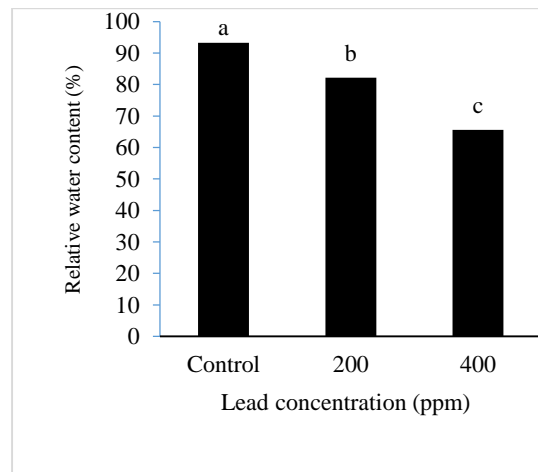
بیشترین درصد اسانس (۲/۳٪) در تلقیح با قارچ میکوریزا *F. mosseae* در شرایط بدون تنش سرب حاصل شد و کمترین درصد اسانس (۱/۰۵٪) در شرایط آلودگی خاک با ۴۰۰ppm سرب در گیاهان تلقیح نشده با قارچ میکوریزا بدست آمد (جدول ۵).
 عملکرد اسانس

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر تنش عنصر سنگین سرب و تلقیح با قارچ میکوریزا و اثر متقابل دو فاکتور بر عملکرد اسانس در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار

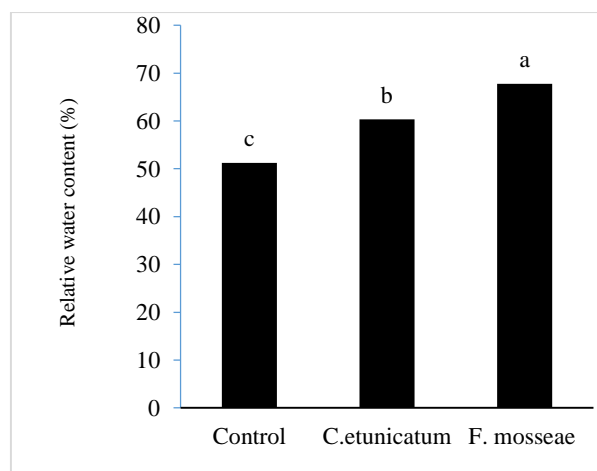
محتوای نسبی آب

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر سرب و قارچ میکوریز بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بوده اما اثر متقابل سرب و تلقیح با قارچ میکوریز معنی‌دار نبود (جدول ۶). تنش سرب موجب کاهش محتوای نسبی آب در گیاه آویشن شد. به طوری که بیشترین درصد محتوای نسبی آب (۹۳/۲۷٪) در شرایط عدم تنش سرب بدست آمد (شکل ۱). همچنین بیشترین درصد محتوای نسبی آب (۶۷/۷۴٪) در تلقیح با قارچ *F. mosseae* مشاهده شد (شکل ۲).

بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌های مربوط به عملکرد اسانس آویشن باغی نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس (۰/۹۳۵ میلی‌لیتر در گلدان) در تیمار تلقیح گیاهان آویشن باغی با قارچ میکوریز گونه *F. mosseae* در شرایط بدون تنش سرب بدست آمد که بعد از آن گیاهان تلقیح شده با قارچ *C. etunicatum* در شرایط بدون تنش سرب با ۰/۷۱۵ میلی‌لیتر اسانس در گلدان قرار داشتند و کمترین عملکرد اسانس (۰/۱۹۳ میلی‌لیتر در گلدان) در گیاهان تلقیح نشده با قارچ میکوریز در شرایط آلودگی خاک با ۴۰۰ ppm سرب حاصل شد (جدول ۵).



شکل ۱- تأثیر تنش سرب بر محتوای نسبی آب در آویشن باغی

Figure 1. Lead stress effects on relative water content (RWC) of *Thymus vulgaris*

شکل ۲- تأثیر تلقیح قارچ بر محتوای نسبی آب در آویشن باغی

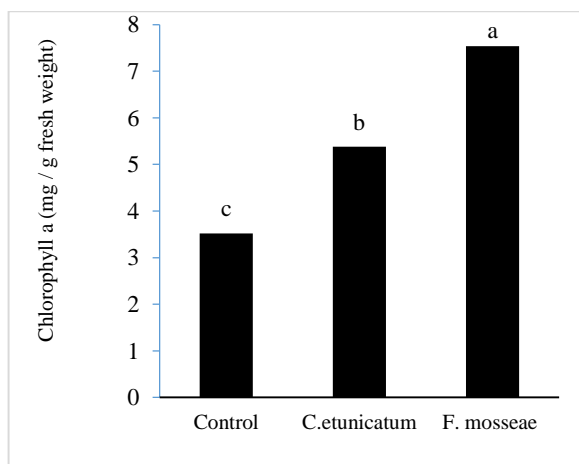
Figure 2. Fungal inoculation effects on relative water content (RWC) of *Thymus vulgaris*

ثبات غشاء

گرم وزن تر) در شرایط بدون سرب بدست آمد (شکل ۳). اما تلقیح گیاهان با قارچ موجب افزایش میزان کلروفیل a شد، به طوری که بیشترین میزان کلروفیل a (۵/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در اثر تلقیح با قارچ *F. mosseae* بدست آمد (شکل ۴).

کلروفیل b

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل b به طور معنی‌داری تحت تأثیر سرب و قارچ و اثر متقابل سرب × قارچ قرار گرفت (جدول ۶). در شرایط تنش سرب میزان کلروفیل b کاهش یافت، در حالی که تلقیح قارچ باعث افزایش میزان کلروفیل شد. به طوری که کمترین میزان کلروفیل b (۱/۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش ۴۰۰ ppm سرب و عدم تلقیح قارچ بدست آمد. همچنین بیشترین میزان کلروفیل b (۹/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط عدم تنش سرب و تلقیح با قارچ *F. mosseae* بدست آمد (جدول ۷).

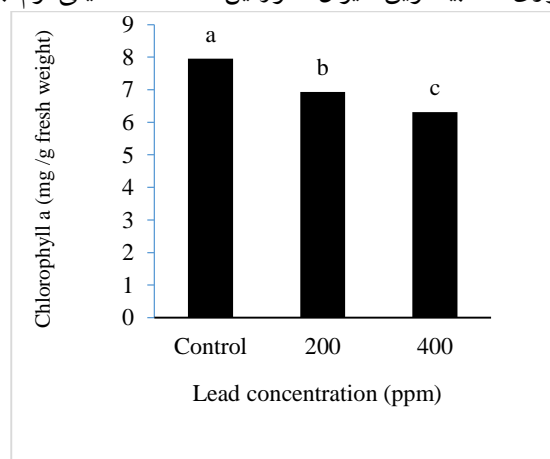


شکل ۴- تأثیر تلقیح قارچ بر میزان کلروفیل a در آویشن باغی
Figure 4. Fungal inoculation effects on chlorophyll a in *Thymus vulgaris*

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر تیمارها نشان داد که ثبات غشاء به طور معنی‌داری تحت تأثیر سرب و اثر متقابل سرب × قارچ قرار گرفت (جدول ۶). کاربرد قارچ موجب افزایش درصد ثبات غشاء شده است، به طوری که کمترین درصد ثبات غشاء (۶۷/۶۸) به ترتیب در غلظت ۴۰۰ ppm تنش سرب و عدم کاربرد قارچ و بیشترین درصد ثبات غشاء (۸۴/۸۱) در شرایط عدم تنش سرب و تلقیح با قارچ *F. mosseae* بدست آمده است که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارهاست (جدول ۷).

کلروفیل a

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل a به طور معنی‌داری تحت تأثیر سرب و قارچ میکوریز قرار گرفت اما اثر متقابل سرب × قارچ معنی‌دار نبود (جدول ۶). با افزایش غلظت سرب میزان کلروفیل a کاهش یافت، به طوری که بیشترین میزان کلروفیل a (۷/۹۵ میلی‌گرم بر



شکل ۳- تأثیر تنش سرب بر میزان کلروفیل a در آویشن باغی
Figure 3. Lead stress effects on chlorophyll a content in *Thymus vulgaris*

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر قارچ میکوریزا بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آویشن باغی در شرایط تنش سرب

Table 6. ANOVA of mycorrhizal fungus effects on physiological and biochemical properties of *Thymus vulgaris* under lead stress conditions

Source of variation	d.f.	Relative water content	Membrane stability	Chlorophyll <i>a</i>	Chlorophyll <i>b</i>	Carotenoids	Proline	Catalase	Peroxidase	Root lead	Stem lead
Lead stress	2	4068.59**	3982.48**	3.38**	41.85**	0.82**	1.48*	0.00001*	882012.08*	0.27**	0.06**
Mycorrhizal fungus	2	129.17**	1.85ns	71.26**	20.74**	12.22**	0.12*	0.000006*	2028398.01*	0.03**	0.42**
Lead × Mycorrhizal fungus	4	11.41ns	1.88**	0.08ns	1.07**	1.02**	0.06*	0.000002ns	0.0004*	0.002**	0.11**
Error	48	8.86	0.71	0.04	0.1	0.09	0.001	0.000002	0.00004	0.0008	0.01
C.V. (%)		4.55	1.2	3.44	6.67	18.88	6.64	12.54	1.54	4.58	8.61

ns, *, and **: no significant difference and significant difference at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

جدول ۷- مقایسه میانگین تأثیر قارچ میکوریز و سرب بر شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی آویشن باغی

Table 7. Means comparison of mycorrhiza and lead effects on biochemical and physiological parameters of *Thymus vulgaris*

Lead	Mycorrhizal fungus	Membrane stability (%)	Proline ($\mu\text{g.g}^{-1}$ FW)	Peroxidase activity ($\text{mg protein.min}^{-1}$)	Chlorophyll <i>b</i> ($\mu\text{g.g}^{-1}$ FW)	Carotenoids ($\mu\text{g.g}^{-1}$ FW)
	Control	80.71c*	0.29i	0.26i	0.9c	7.42c
Control	<i>C. etunicatum</i>	82.35b	0.31h	0.32h	0.96b	8.27b
	<i>F. mosseae</i>	84.81 a	0.33g	0.33g	1.03a	9.48a
200ppm	Control	76.27f	0.31f	0.38f	0.76f	4.38f
	<i>C. etunicatum</i>	78.17e	0.361e	0.43e	0.8e	5.15e
	<i>F. mosseae</i>	80.1d	0.368d	0.44d	0.87d	6.56d
400ppm	Control	67.68i	0.44c	0.45c	0.51i	1.76i
	<i>C. etunicatum</i>	70.4h	0.48b	0.48b	0.59h	2.46h
	<i>F. mosseae</i>	72.36g	0.51a	0.49a	0.61g	3.89g

*In each column, the means with at least one common letter are not significantly different (LSD test) at 5% probability level.

کاروتنوئید

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان کاروتنوئید در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر سرب و قارچ و نیز اثر متقابل سرب × قارچ قرار گرفت (جدول ۶). در شرایط تنش سرب از میزان کاروتنوئید کاسته شد، در حالی که تلقیح قارچ باعث افزایش میزان کاروتنوئید گردید. به طوری که کمترین میزان کاروتنوئید (۰/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش ۴۰۰ ppm سرب و عدم تلقیح با قارچ بدست آمد و بیشترین میزان کاروتنوئید (۱/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط عدم تنش سرب و تلقیح با قارچ *F. mosseae* حاصل شد که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارهاست (جدول ۷).

محتوای پرولین

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای پروتئین در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر تنش سرب و تلقیح با قارچ میکوریزا و نیز اثر متقابل سرب × قارچ قرار گرفت (جدول ۶). در شرایط تنش سرب محتوای پرولین به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین تلقیح قارچ باعث افزایش محتوای پرولین شد. به طوری که کمترین محتوای پرولین (۰/۲۹ میکروگرم بر گرم وزن تر) عدم تنش سرب و عدم تلقیح قارچ بدست آمد. همچنین بیشترین محتوای پرولین (۰/۵۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش ۴۰۰ ppm و تلقیح با قارچ *F. mosseae* بدست آمده است که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارهاست (جدول ۷).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر سرب و قارچ و نیز اثر متقابل سرب × قارچ بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۶).

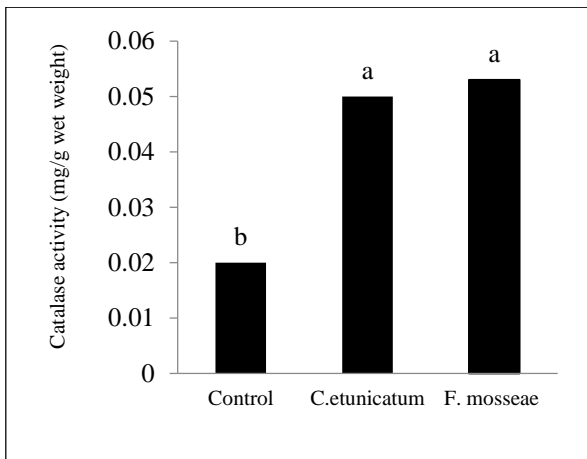
تنش سرب موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. همچنین تلقیح قارچ باعث افزایش محتوای فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید. به طوری که کمترین محتوای فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۲۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در شرایط تنش ۴۰۰ ppm سرب و عدم تلقیح قارچ و بیشترین محتوای فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط عدم تنش سرب و تلقیح با قارچ *F. mosseae* بدست آمد (جدول ۷).

فعالیت آنزیم کاتالاز

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معنی‌داری تحت تأثیر سرب و تلقیح با قارچ میکوریزا قرار گرفت اما اثر متقابل سرب × قارچ معنی‌دار نبود (جدول ۶). تنش سرب موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد، به طوری که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط کاربرد ۴۰۰ ppm سرب بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (شکل ۵). همچنین تلقیح گیاهان آویشن با قارچ میکوریزا موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در قارچ *F. mosseae* بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با قارچ *C. etunicatum* نداشت (شکل ۶).

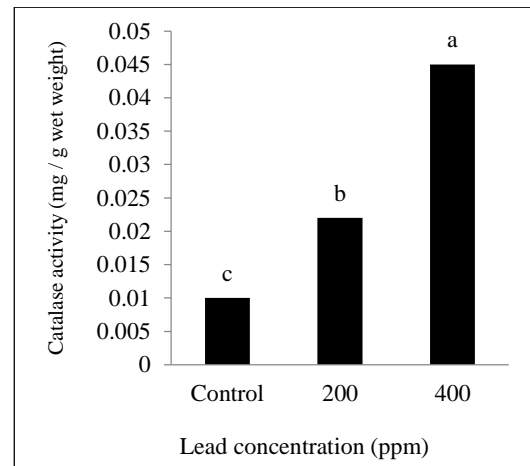
درصد کلونیزاسیون

با افزایش غلظت سرب در خاک درصد کلونیزاسیون قارچ‌های میکوریزا با ریشه گیاه آویشن کاهش یافت (شکل ۷). به طوری که بیشترین درصد کلونیزاسیون (۸۲٪) در گیاهان پرورش یافته در خاک بدون آلودگی سرب حاصل شد و کمترین میزان (۳۲٪) برای این صفت در گیاهان رشد کرده در خاک با آلودگی ۴۰۰ ppm سرب مشاهده شد (شکل ۷).



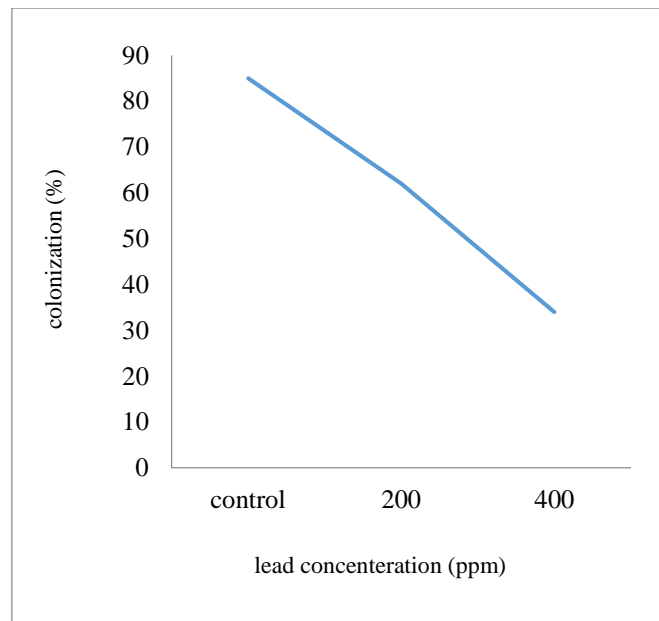
شکل ۶- تأثیر تلقیح قارچ بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در آویشن باغی

Figure 6. Fungal inoculation effects on catalase activity in *Thymus vulgaris*



شکل ۵- تأثیر تنش سرب بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در آویشن باغی

Figure 5. Lead stress effects on catalase activity in *Thymus vulgaris*



شکل ۷- تأثیر آلودگی سرب بر درصد کلونیزاسیون قارچ میکوریزا در ریشه آویشن باغی

Figure 7. Lead contamination effects on percentage of mycorrhizal fungus colonization in *Thymus vulgaris* root

داد که تأثیر تنش عنصر سنگین سرب و تلقیح با قارچ‌های میکوریز و اثرهای متقابل تنش سرب و تلقیح با قارچ‌های میکوریز نیز برای عنصر سرب در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار ($P \leq 0.01$) شد. مقایسه میانگین تأثیر تیمارها نشان داد که

میزان سرب در گیاه نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای تنش سرب و تلقیح با قارچ‌های میکوریز (*F. mosseae*) و (*C. etunicatum*) بر محتوای عناصر ریشه گیاه آویشن نشان

۴۰۰ ppm سرب بدست آمد. کمترین میزان سرب ریشه و شاخساره نیز در گیاهان بدون تیمار سرب بدست آمد. در آلودگی با غلظت ۲۰۰ ppm و ۴۰۰ ppm سرب، میزان جذب این عنصر در ریشه و شاخساره در تیمار تلقیح گیاهان آویشن با قارچ میکوریز کاهش یافت و گیاهان تلقیح شده با قارچ *F. mosseae* کمترین میزان سرب ریشه و شاخساره را داشتند (جدول ۸).

با افزایش غلظت عنصر سنگین سرب در بستر کاشت، میزان سرب ریشه و شاخساره آویشن به طور معنی داری افزایش یافت و میزان سرب ریشه و شاخساره در گیاهان پرورش یافته در بسترهای حاوی ۴۰۰ ppm سرب در مقایسه با گیاهان رشد کرده در تیمار بستر بدون آلودگی عنصر سنگین سرب به طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین میزان سرب شاخساره و ریشه گیاهان آویشن در شرایط آلودگی

جدول ۸- مقایسه میانگین تأثیر قارچ میکوریز و تنش سرب بر محتوای عنصر سرب در آویشن باغی

Table 8. Means comparison of mycorrhiza and lead stress effects on lead element content in *Thymus vulgaris*

Lead	Mycorrhizal fungus	Root lead (mg.kg ⁻¹ DW)	Steam lead (mg.kg ⁻¹ DW)
Control	Control	-	-
	<i>C. etunicatum</i>	-	-
	<i>F. mosseae</i>	-	-
200ppm	Control	15d*	8bc
	<i>C. etunicatum</i>	12e	6cd
	<i>F. mosseae</i>	10f	5d
400ppm	Control	24a	13a
	<i>C. etunicatum</i>	20b	11ab
	<i>F. mosseae</i>	17c	9b

*In each column, the means with at least one common letter are not significantly different (LSD test) at 5% probability level.

بحث

گیاه می‌شود (Alidadi Khaliliha et al., 2016). بنابراین به نظر می‌رسد که سرب به دلیل انباشت زیاد در بخش‌های سطحی خاک به راحتی در دسترس گیاهان قرار گرفته و با جلوگیری از تقسیم سلول‌های مریستمی و رشد سلول‌های ریشه، لیگنینی شدن دیواره و کاهش قابلیت ارتجاع دیواره سلولی سبب مسمومیت و کاهش رشد ریشه می‌شود (Cenkci et al., 2010).

قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار با بیش از ۹۰٪ گیاهان زراعی ارتباط همزیستی برقرار می‌کنند (Ardakani et al., 2010). تأثیر مایه‌زنی قارچ *G. mosseae* در کاهش اثرهای عناصر سنگین و افزایش رشد در گیاهان مختلف از قبیل اکالیپتوس (Bafeel, 2010)، گشنیز (Fatemi et al., 2020)، خردل هندی (Punamiya et al., 2010) و همیشه بهار

در این پژوهش افزایش غلظت سرب در خاک باعث کاهش مقادیر شاخص‌های رشدی گیاه آویشن شد، به طوری که بیشترین کاهش رشد در بالاترین سطح تنش یعنی غلظت ۴۰۰ ppm سرب مشاهده شد و تلقیح با قارچ‌های میکوریز سبب بهبود رشد گیاهان آویشن در شرایط تنش سرب شد. Zheljakov و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که عملکرد گیاهان دارویی مریم‌گلی، شوید، ریحان، بادرنجبویه و زوفا در خاک‌های آلوده به سرب کاهش پیدا کرد. سرب با کاهش جوانه‌زنی بذر، جذب و انتقال آب، تعرق، تولید کلروفیل و کاروتنوئیدها، سازماندهی غشایی کلروپلاست، فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، جلوگیری از انتقال الکترون و فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین در فتوسنتز موجب کاهش رشد

برقراری تعادل سطوح و مواد غذایی خاک و بهبود تغذیه معدنی گیاه، تأثیر مثبتی بر مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه داشته و از این طریق در میزان مواد مؤثره تولیدی تأثیرگذار بوده است (Gupta et al., 2010).

با افزایش غلظت سرب در خاک مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه آویشن کاهش یافت. کاهش میزان کلروفیل a, b و کل در شرایط تنش در گشنیز (Fatemi et al., 2020) و شوید (Rahbari et al., 2020) گزارش شده است. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a و b در گیاهان تحت تیمار سرب نمایانگر آسیب‌های اکسیداتیو به دلیل پراکسیداسیون غشای کلروپلاست (Andrade et al., 2009) یا بازدارندگی مراحل مختلف بیوسنتز رنگیزه‌ها توسط سرب و افزایش فعالیت کلروفیل‌لاز است (Rady & Osman, 2012). سرب در حلقه پورفیرینی کلروفیل جانشین منیزیم شده و مقدار کلروفیل‌ها را کاهش می‌دهد (Sharma & Dubey, 2005). در این آزمایش تلقیح با قارچ میکوریز سبب جلوگیری از کاهش شدید میزان کلروفیل a و b در گیاهان آویشن تحت تنش سرب شد که این را می‌توان به بهبود جذب عناصر غذایی دخیل در بیوسنتز کلروفیل از قبیل منیزیم و نیتروژن نسبت داد (Rohani et al., 2019).

در این آزمایش عنصر سنگین سرب سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با تیمار شاهد شد. Cenkci و همکاران (۲۰۱۰) نیز دریافته‌اند با افزایش غلظت سرب، محتوای نسبی آب برگ گیاهان کاهش می‌یابد. فلزات سنگین با تغییر فعالیت پروتئین‌های کانالی آب در گیاهان، روزه‌های برگ را بسته و در نتیجه جریان آب را در گیاه متوقف می‌کنند (Sharma & Dubey, 2005). کاهش تعرق و محتوای آب در گیاهان تحت تنش سرب را به اختلال در رشد گیاه و کاهش سطح برگ، کوچک ماندن سلول‌های محافظ روزه، کاهش مقدار ترکیب‌های نگهدارنده تورژسانس سلولی و افزایش مقدار اسید آبسزیک مرتبط دانسته‌اند (Cenkci et al., 2010).

در این مطالعه با افزایش غلظت سرب در خاک، شاخص

در خاک‌های آلوده به سرب گزارش شده است. افزایش رشد گیاه در اثر تلقیح با میکوریز می‌تواند ناشی از تسریع تقسیم سلولی و رشد ریشه، جذب آب و مواد غذایی، افزایش ترشح هورمون‌هایی مانند سیتوکینین و اکسین باشد، که نشان‌دهنده یک رابطه مثبت قوی بین کلونیزاسیون ریشه، جذب عناصر غذایی و بهبود رشد می‌باشد (Zaidi & Khan, 2006).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش میزان عنصر سنگین سرب در خاک درصد و عملکرد اسانس در گیاه آویشن باغی کاهش یافت (جدول ۵). Topalov و Zheljzkov (۱۹۹۱) نیز گزارش کردند که عملکرد اسانس گیاهان نعناع فلفلی کشت شده در کمپوست‌های آلوده به عناصر سنگین کاهش یافت. از سوی دیگر سنتز اسانس و ترکیب‌های ترپنوئیدهای سنتز شده در غده‌های اپیدرمی مصرف‌کننده کربنی می‌باشد که از طریق فتوسنتز تأمین می‌شود. در نتیجه سنتز اسانس در غده‌های اپیدرمی تابع تأمین مداوم کربن فتوسنتزی است و اختلال در تغذیه کربن توسط عناصر سنگین می‌تواند باعث کاهش مقدار اسانس شود. تلقیح با قارچ‌های میکوریز باعث افزایش رشد و فتوسنتز گیاه آویشن در شرایط سرب شده و درصد و عملکرد اسانس آن را در شرایط تنش این عنصر سنگین افزایش داد (جدول ۵). نتایج برخی پژوهش‌ها نیز بر عملکرد بالاتر نشاء‌های تلقیح شده با قارچ میکوریز نسبت به گیاهان شاهد در شرایط تنش‌های محیطی دلالت داشته‌اند (Koltai et al., 2008; Carpio et al., 2005). تأثیر کاربرد قارچ میکوریز آربوسکولار در افزایش رشد و عملکرد اسانس در گیاهان *Origanum sp* (Khaosaad et al., 2006) و آرتیمیزیای (*Artemisia annua*) (Kapoor et al., 2007) گزارش شده است. کاربرد دو گونه قارچ میکوریز *Glomus fasciculatum* و *Glomus macrocarpum* در گیاه رازیانه (Kapoor et al., 2004) و تلقیح گیاهان آویشن دناپی با قارچ *Glomus mossea* (Bahadori et al., 2014) سبب افزایش رشد و میزان اسانس شد. از این رو، به نظر می‌رسد که میکوریزها از طریق زیست فراهمی عناصر،

این رادیکال آزاد منجر به آسیب به پروتئین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسید نوکلئیک، شکسته شدن رشته DNA و تخریب غشاء می‌شود (Fatemi et al., 2020). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یکی از سازوکارهایی است که گیاه برای حذف یا از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در اثر تنش بکار می‌برد (Wang et al., 2010). سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی یکی از سازوکارهای اصلی سمیت‌زدایی فلزات سنگین در گیاهان است. در این آزمایش سرب سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. افزایش فعالیت آن در تیمار با فلزات سنگین به دلیل افزایش تولید پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی و برای مقابله با شرایط تنش می‌باشد (Gill & Tuteja, 2010). کاتالاز سبب تجزیه H_2O_2 به آب و اکسیژن می‌شود. همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز تحت غلظت‌های مختلف سرب در گیاه آویشن به شدت افزایش یافت، این آنزیم اثر مخرب یون‌های سوپراکسید را دفع می‌کند (Rahbari et al., 2020). تلقیح با قارچ میکوریزا از طریق افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز و کاتالاز تولید رادیکال‌های آزاد و مالون دی‌آلدئید را در گیاه نخودفرنگی و لوبیا کاهش داد (Andrade et al., 2009). تأثیر تلقیح با قارچ گونه *Glomus etunicatum* در افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش مس گزارش شد (Farshian et al., 2007). Tan و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند در گیاه *Solanum photeinocarpum* تحت تنش فلزات سنگین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در حضور قارچ میکوریزا افزایش یافت.

در این پژوهش استفاده از قارچ میکوریزا باعث کاهش جذب عنصر سنگین سرب توسط گیاه آویشن شد (جدول ۸) و میزان تجمع سرب در بخش هوایی گیاه نیز کمتر از ریشه گیاه بود که براساس استانداردهای سازمان خواربار جهانی (FAO) و سازمان بهداشت جهانی پایین‌تر (WHO) از حد مجاز تجمع سرب در گیاه بود (Opaluwa et al., 2012؛ Nazir et al., 2015). در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین قارچ‌های میکوریزا به‌طور کلی دو سازوکار عمده

نشت غشاء در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشت. نتایج مشابهی در رابطه با اثر آلودگی سرب بر افزایش نشت غشاء در شوید (Rahbari et al., 2020) و گشنیز (Fatemi et al., 2020) گزارش شده است. احتمالاً سرب موجب افزایش میزان پراکسیداسیون و تجزیه لیپیدهای غشایی (Gill & Tuteja, 2010) به‌ویژه غشای کلروپلاستی و اختلال در ساختار غشای سلولی و ناپایدار شدن آن می‌شود و در نهایت منجر به انتشار یون‌ها و محتویات درون سلول به خارج آن می‌شود (Sharma & Dubey, 2005). سرب همچنین با غیرفعال کردن آنزیم‌های غشایی و ممانعت از فعالیت ATPase بر یکپارچگی غشاء تأثیر می‌گذارد (Ruley et al., 2006). قارچ‌های میکوریزا از تأثیر مخرب فلزات سنگین در آپوپلاست یا واکوئل سلول گیاهی جلوگیری می‌کنند (Lasat et al., 2000).

در این پژوهش با افزایش غلظت سرب میزان پرولین افزایش یافت. افزایش پرولین در گیاه در اثر تنش عنصر سنگین سرب توسط سایر پژوهشگران (Andrade et al., 2009) نیز گزارش شده است. در تنش فلزات سنگین، تجمع پرولین در گیاه پاسخی در برابر القاء تنش می‌باشد و تولید بالای این اسیدآمین می‌تواند سبب تحمل گیاه در مقابل تنش شود. اسید آمینه پرولین به‌عنوان یک ماده اسمزی و به‌عنوان جاروب‌کننده گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر و یک محافظ مولکولی برای حفظ ساختار پروتئین و خنثی کردن اثر تنش فلزات سنگین در گیاه است (Zhang et al., 2019). تأثیر تلقیح با قارچ میکوریزا نیز در افزایش میزان پرولین در گیاهان (Mishra et al., 2006) گزارش شده است.

نتایج این پژوهش نشان داد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز در گیاه آویشن به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش سرب افزایش یافت. سرب با اتصال به گروه H-S آنزیم‌های دخیل در زنجیره انتقال الکترون در غشای پلاسمایی سبب نشت الکترون از طریق غشای پلاسمایی می‌شود و از سوی دیگر اتصال فلز سرب به اسیدهای نوکلئیک سبب افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر مانند هیدروژن پراکسید می‌شود (Chin, 2007)،

- Streptomyces efficiency and different levels of phosphorus, on grain yield and some characters of Wheat. Iranian Journal of Crop Sciences, 2(2): 17-28.
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23: 112-121.
 - Bafeel, S., 2010. Physiological and biochemical aspects of tolerance in *Lepidium sativum* (cress) to lead toxicity. Catrina: The International Journal of Environmental Sciences, 5(1): 1-7
 - Bahadori, F., Sharifi Ashorabadi, E., Mirza, M., Matinzade, M. and Abdosi, V., 2014. Interactive effect of rhizosphere micro-organisms on nutrient uptake and essential oil yield of *Thymus daenensis*. Plant production journal, 5(2): 23-34.
 - Bates, L.S., Waldern, R.P. and Teave, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
 - Bolandnazar, S., Aliasgarzad, N., Neishabury, M. and Chaparzadeh, N., 2007. Mycorrhizal colonization improves onion (*Allium cepa* L.) yield and water use efficiency under water deficit condition. Scientia horticulturae 114: 11-15.
 - Carpio, L.A., Davies, F.T. and Arnold, M.A., 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi, organic and inorganic controlled- release fertilizers: effect on growth and leachate of container- grown Bush morning glory (*Ipomoea carnea* sp. Fistulosa) under high production temperatures. Journal of the American Society for Horticultural Science, 130(1): 131-139.
 - Cenkci, S., Cioerci, I.H., Yildiz, M., Oezay, C., Bozdao, A. and Terzi, H., 2010. Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. Environmental Experimental Botany, 67: 467-470.
 - Chin, L., 2007. Investigations into Lead (Pb) Accumulation in *Symphytum officinale* L.: A Phytoremediation Study. A thesis of Doctor of Philosophy in Plant Biotechnology School of Biological Sciences, University of Conterbury.
 - Farshian, S., Khara, J. and Malekzadeh, P., 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal (*G. etunicatum*) fungus on antioxidant enzymes activity under zinc toxicity in lettuce plants. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10(11): 1865-1869.
 - Fatemi, H., Esmailpour, B., Sefidkon, F., Soltani A.A. and Nematollahzadeh, A., 2020: How mycorrhiza symbiosis help coriander (*Coriandrum sativum* L.) plants grow better under contaminated soil?. Journal of Plant Nutrition, 22: 140-156.
 - Gill, S.S. and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinert in abiotic stress in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48(12): 909-930.
 - Gonzalez-Chavez, M.C., Carrillo-Gonzalez, R., Wright, S.F. and Nichols, K., 2004. The role of

تثبیت گیاهی و گیاه‌پالایی در مقابل فلزات سنگین دارند. قارچ‌های میکوریز با ایجاد کمپلکس نقش اکولوژیک قابل توجهی در تثبیت فلزات سنگین توسط گیاه ایفاء کرده و در نتیجه به بقای گیاهان تلقیح شده با میکوریز کمکی می‌کنند. ترکیب‌های دیواره سلولی قارچ‌های حاوی ترکیب‌هایی مانند آمینواسیدهای آزاد و گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل است که قادرند به فلزات سنگین سمی متصل و آنها را کمپلکس کنند و از انتقال فلز سنگین به بخش هوایی و شاخساره گیاه جلوگیری کنند (Kapoor & Viraraghavan, 1995). در تثبیت گیاهی گیاه از طریق جذب فلزات سنگین توسط پروتئین گلوبالین که نوعی گلیکوپروتئین نامحلول است که به فراوانی توسط ریشه‌های همزیست شده با قارچ میکوریز ترشح می‌شود باعث کاهش جذب عنصر سنگین توسط گیاه می‌گردد (Gonzalez-Chavez et al., 2004)، همچنین جذب فلز سنگین با کیتین موجود در دیواره سلولی هیف‌های خارجی قارچ بر کاهش جذب فلزات سنگین توسط گیاه تأثیر می‌گذارد (Shackira & Puthur, 2017). به‌طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق مبین آن است که استفاده از قارچ میکوریز از طریق افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سازماندهی سازوکارهای دفاعی آنتی‌اکسیدان و جلوگیری از جذب و انتقال عنصر سنگین سرب به بخش هوایی گیاه اثرهای زیانبار ناشی از تنش سمیت سرب را تخفیف می‌دهد.

References

- Alidadi Khaliliha, M., Dordipour, E. and Barani Motlagh, M., 2016. Interactive effect of iron and lead on growth and their uptake in Cress (*Lepidium sativum* L.). Journal of Soil Management and Sustainable Production, 5(4): 41-59.
- Alloway, T.P. and Alloway, R.G., 2010. Investigating the predictive roles of working memory and IQ in academic attainment. Journal of Experimental Child Psychology, 106: 20-29.
- Andrade, S.A.D., Silveira, A.P.D., Jorge, R.A. and Abreu, M.F.D., 2009. Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. International Journal of Phytoremediation, 10: 1-13.
- Ardakani, M.R., Mazaheri, D., Majd, F. and Normohamadi, G., 2010. Study mycorrhiza and

- supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*, 93: 07-311.
- Kar, M. and Mishra, D., 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant physiology*, 57(2): 315-319.
 - Khaosaad, T., Vierheilig, H., Nell, M., Zitterl-Eglseer, K. and Novak, J., 2006. Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza*, 16: 443-446.
 - Koltai, H., Meir, D., Shlomo, E., Resnick, N., Ziv, O., Wininger, S., Ben-Dor, B. and Kapulnik, Y., 2008. Exploiting arbuscular mycorrhizal technology in different cropping systems under greenhouse conditions in semi-arid regions. *Acta Horticulturae*, 797: 223-228.
 - Kormanik, P.P. and McGraw, A.C., 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots: 37-45. In: Schenck, N.C., (Ed.). *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. The American Phytopathological Society, 244p.
 - Lasat, M.M., Pence, N.S., Garvin, D.F., Ebbs, S.D. and Kochian, L.V., 2000. Molecular physiology of zinc transport in the Zn hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany*, 51: 71-79.
 - Luo, J., Li, X., Jin, Y., Traore, I., Dong, L., Yang, G. and Wang, Y., 2020. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi *glomus mosseae* on the growth and medicinal components of *dysosma versipellis* under copper stress. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 107(5): 924-930.
 - Maehly, A. and Chance, B., 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods of Biochemical Analysis*, 1: 357-424.
 - Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R., Kumar, R., Seth, C. and Gupta, D., 2006. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatin and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere*, 65(6): 1027-1039.
 - Mozaffarian, V., 2013. Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhang Moaser, Tehran, 1444p.
 - Nazir, R., Khan, M., Masab, M., Rehman, H.U., Rauf, N.U., Shahab, S., Ameer, N., Sajed, M., Ullah, M., Rafeeq, M. and Shaheen, Z., 2015. Accumulation of heavy metals (Ni, Cu, Cd, Cr, Pb, Zn, Fe) in the soil, water and plants and analysis of physico-chemical parameters of soil and water collected from tanda dam kohat. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(3): 89-97.
 - Opaluwa, O.D., Aremu, M.O., Ogbo, L.O., Abiola, K.A., Odiba, I.E., Abubakar, M.M. and Nweze, N.O., 2012. Heavy metal concentrations in soils, plant leaves and crops grown around dump sites in Lafia glomalin, a protein produced by Arbuscular mycorrhizal fungi in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution*, 130: 317-323.
 - Gottesfeld, P., Were, F.H., Adogame, L., Gharbi, S., San, D., Nota, M.M. and Kuepouo, G., 2018. Soil contamination from lead battery manufacturing and recycling in seven African countries. *Environmental Research*, 161: 609-614.
 - Gupta, A.P., Dhar, J.K., Sharma, G., Ram, G. and Bedi, Y.S., 2010. Volatile (As and Hg) and non-volatile (Pb and Cd) toxic heavy metals analysis in rhizome of *Zingiber officinale* collected from different locations of North Western Himalayas by Atomic Absorption Spectroscopy. *Food Chemical Toxicology Journal*, 48(10): 2966-2971.
 - Hildebrandt, U., Regvar, M. and Bothe, H., 2007. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry*, 68: 139-146.
 - Hu, J., Chan, P.T., Wu, F., Wu, S., Zhang, J., Lin, X. and Wong, M.H., 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi induce differential Cd and P acquisition by Alfred stonecrop (*Sedum alfredii* Hance) and upland kangkong (*Ipomoea aquatica* Forsk.) in an intercropping system. *Applied Soil Ecology*, 63: 29-35.
 - Hu, J., Wang, H., Wu, F., Wu, S., Cao, Z., Lin, X. and Wong, M.H., 2014. Arbuscular mycorrhizal fungi influence the accumulation and partitioning of Cd and P in bashfulgrass (*Mimosa pudica* L.) grown on a moderately Cd-contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, 73: 51-57.
 - Huang, Z., Pan, X.D., Wu, P.G., Han, J.L. and Chen, Q., 2014. Heavy metals in vegetables and the health risk to population in Zhejiang, China. *Food Control*, 36(1): 248-252.
 - Irigoyen, J., Einerich, D. and Sánchez-Díaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84: 55-60.
 - Jayakumar, K., Jaleel, C.A. and Vijayarangan, P., 2007. Changes in growth, biochemical constituents, and antioxidant potentials in radish (*Raphanus sativus* L.) under cobalt stress. *Turkish Journal of Biology*, 31: 127-136.
 - Kapoor, A. and Viraraghavan, T., 1995. Fungal biosorption-an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewater. *Bioresource Technology*, 53: 195-206.
 - Kapoor, R., Chaudhary, V. and Bhatnagar, A., 2007. Effect of the arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. *Mycorrhiza*, 17: 581-587.
 - Kapoor, R., Giri, B., Krishna, G. and Mukerji, I., 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill on mycorrhizal inoculation

- L.) under heavy metals stress. *International Journal of Phytoremediation*, 17: 1244-1252.
- Tan, S.Y., Jiang, Q., Zhuo, F., Liu, H., Wang, Y.T., Li, S.S., Ye, Z.H. and Jing, Y.X., 2015. Effect of inoculation with *Glomus versiforme* on cadmium accumulation, antioxidant activities and phytochelatins of *Solanum photeinocarpum*. *PLoS ONE*, 10: 1-16.
 - Topalov, V. and Zheljzakov, V., 1991. Effect of harvesting stages on the yield of fresh material, essential oil, and planting material from *Mentha piperita* Huds. and *Mentha arvensis* L. *Herba Hungarica*. 30(1-2): 60-67.
 - Wang, C., Tian, Y., Wang, X., Geng, J., Jiang, J. and Yu, H., 2010. Lead-contaminated soil induced oxidative stress, defense response and its indicative biomarkers in roots of *Vicia faba* seedlings. *Ecotoxicology*, 19: 1130-1139.
 - Wojas, S., Rusczyńska, A., Bulska, E., Wojciechowski, M. and Antosiewicz, D.M., 2007. Ca^{2+} -dependent plant response to Pb^{2+} is regulated by LCT1. *Environmental Pollution*, 147: 584-592.
 - Wu, Q.S. and Xia, R.X., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 163: 417-425.
 - Yang, Y., Han, X., Liang, Y., Ghosh, A., Chen, J. and Tang, M., 2015. The combined effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and lead (Pb) stress on Pb accumulation, plant growth parameters, photosynthesis, and antioxidant enzymes in *Robinia pseudoacacia* L. *PLoS One*, 10(12): e0145726.
 - Zaidi, A. and Khan, M.S., 2006. Co-inoculation effects of phosphate solubilizing microorganisms and *Glomus fasciculatum* on green gram-bradyrhizobium symbiosis. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30: 223-230.
 - Zhang, X.F., Hu, Z.H., Yan, T.X., Lu, R.R., Peng, C.L., Li, S.S. and Jing, Y.X., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate Cd phytotoxicity by altering Cd subcellular distribution and chemical forms in *Zea mays*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171: 352-360.
 - Zheljzakov, V.D., Jeliakova, E.A., Kovacheva, N. and Dzhurmanski, A., 2008. Metal uptake by medicinal plant species grown in soils contaminated by smelter. *Environmental and Experimental Botany*, 64: 207-216.
 - Metropolis, Nasarawa State, Nigeria. *Advanced and Applied Science and Research*, 3: 780-784
 - Pidatala, V.R., Li, K., Sarkar, D., Wusirika, R. and Datta, R., 2018. Comparative metabolic profiling of vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) and maize (*Zea mays*) under lead stress. *Chemosphere*, 193: 903-911.
 - Punamiya, P., Datta, R., Sarkar, D., Barber, S., Patel, M. and Da, P., 2010. Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides*). *Journal of Hazardous Materials*, 177: 465-474.
 - Rady, M.M. and Osman, A.Sh., 2012. Response of growth and antioxidant system of heavy metal-contaminated tomato plants to 24-epibrassinolide. *African Journal of Agricultural Research*, 7(21): 3249-3254.
 - Rahbari, A., Fatemi, H., Esmailpour, B., Rizwan, M. and Soltani A.A., 2020. Lead (Pb)-resistant bacteria inhibit Pb accumulation in dill (*Anethum graveolens* L.) by improving biochemical, physiological, and antioxidant enzyme response of plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 165-181.
 - Redmann, R., Haraldson, J. and Gusta, L., 1986. Leakage of UV- absorbing substances as a measure of salt injury in leaf tissue of woody species. *Physiologia Plantarum*, 67: 87-91.
 - Rohani, N., Daneshmand, F., Vaziri, A., Mahmoudi, M. and Saber-Mahani, F., 2019. Growth and some physiological characteristics of *Pistacia vera* L. cv Ahmad Aghaei in response to cadmium stress and *Glomus mosseae* symbiosis. *South African Journal of Botany*, 124: 499-507.
 - Ruley, A.T., Sharma, N.C., Sahi, S.V., Singh, S.R. and Sajwan, K.S., 2006. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. *Environmental pollution*, 144: 11-18.
 - Shackira, A. and Puthur, J.T., 2017. Enhanced phytostabilization of cadmium by a halophyte-*Acanthus ilicifolius* L. *International Journal of Phytoremediation*, 19: 319-326.
 - Sharma, P. and Dubey, R.S., 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1): 35-52.
 - Tabrizi, L., Mohammadi, S., Delshad, M. and Moteshare Zadeh, B., 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on yield and Phytoremediation performance of Pot Marigold (*Calendula officinalis*

Effects of arbuscular mycorrhizae on growth, biochemical characteristics, and essential oil yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.) under lead heavy metal stress

R. Rostami¹, B. Esmailpour^{2*}, S.A. Hosseini³, G. Salimi⁴ and A. Etminan⁴

1- Ph.D. student, Department of Environment and Natural Resources, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

2*- Corresponding author, Horticultural Science Department, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran
E-mail: behsmaiel@yahoo.com

3- Department of Environment and Natural Resources, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

4- Department of Plant Breeding and Biotechnology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

Received: October 2020

Revised: February 2022

Accepted: February 2022

Abstract

To investigate the effects of mycorrhizal fungi on growth characteristics, physiology, and essential oil yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.) under lead (Pb) stress, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in the research greenhouse of University of Mohaghegh Ardabili (UMA) in 2018. Experimental treatments included different levels of Pb heavy metal (0, 200, and 400 ppm) and inoculation with mycorrhizal fungi (without inoculation, inoculation with *Funneliformis mosseae*, and *Claroideoglomus etunicatum*). The results showed that in comparison with the control, with increasing Pb concentration in the soil, plant height (40.56%), number of leaves (36.09%), stem dry weight (43.50%), essential oil percentage (40%), and cell membrane stability (16.14%) were significantly decreased, while proline content (51.72%) and catalase activity (45%) of the leaves increased. Inoculation of thyme with the mycorrhizal fungi was effective in increasing the vegetative indices in presence of Pb heavy metal so that both *G. mosseae* and *G. etunicatum* increased the number of leaves by 66.20 and 9.55% compared to the control, respectively. Also, inoculation with *G. mosseae* under severe Pb stress conditions (400 ppm) increased leaf proline content (11.49%), peroxidase enzyme activity (8.8%), chlorophyll *b* (21%), total chlorophyll (70.43%), carotenoids (19.6%), and essential oil percentage (55%) compared to the control. Overall, both mycorrhizal fungi were effective on alleviation of Pb toxicity effects and *F. mosseae* had better performance, especially in terms of morphological traits and essential oil yield. Due to the negative effects of heavy elements on human health, the recommendations to use mycorrhizal fungi to reduce the absorption of heavy metals in plants should be done with more consideration of all aspects including the plant and fungus species type and rate and pollution type.

Keywords: Enzyme, proline, growth, pigment, toxicity, morphophysiological traits.