

تأثیر زغال زیستی و قارچ میکوریز بر خصوصیات رشدی و تغذیه گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)

احسان کریمی^۱، مصطفی شیرمردی^{۲*}، مریم دهستانی اردکانی^۳، مجتبی کریمی^۴ و جلال غلام نژاد^۳

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۰۵)

چکیده

کاربرد قارچ میکوریز و زغال زیستی می‌تواند با افزایش جذب آب و عناصر از منطقه ریشه باعث بهبود تولید محصول شوند. به منظور بررسی اثر زغال زیستی بقایای هرس هلو (صفر، دو و چهار درصد وزنی-وزنی) و قارچ میکوریز (عدم تلقیح و تلقیح با قارچ میکوریز) بر خصوصیات مرفوفیزیولوژیک و غلظت عناصر در اندام‌هوایی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. زغال زیستی تهیه شده از الک دو میلی‌متری عبور داده و با خاک مخلوط شد. کاربرد قارچ میکوریز به روش تماس مستقیم با ریشه گیاه انجام شد. پس از شش ماه، ویژگی‌های مرفوفیزیولوژیک و غلظت برخی عناصر ماکرو و میکرو در اندام‌هوایی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با کاربرد همزمان چهار درصد زغال زیستی و قارچ میکوریز، کلروفیل، قطر گل، ارتفاع گیاه، سطح برگ، قطر ساقه، وزن خشک گیاه و غلظت عناصر فسفر، پتاسیم، کلسیم و آهن نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تیمار چهار درصد زغال زیستی و کاربرد همزمان چهار درصد زغال زیستی و قارچ میکوریز توانست غلظت روی را در اندام‌هوایی گیاه نسبت به شاهد به ترتیب ۱۳/۷ و ۱۹/۵ درصد افزایش دهد. کاربرد چهار درصد زغال زیستی منجر به افزایش معنی‌دار Mn نسبت به شاهد شد (۹۱/۳ در مقابل ۸۶/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای شاهد)، در حالی که کاربرد دو درصد زغال زیستی تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد و چهار درصد زغال زیستی نشان نداد. نتایج تأثیر اضافه کردن زغال زیستی به خاک پس از دوره رشد گیاه نشان داد که با اضافه کردن چهار درصد زغال زیستی، پتاسیم قابل جذب، Ca، Mg و Mn نسبت به شاهد به ترتیب ۳۱/۲، ۷۱/۴، ۲۵/۸ و ۲۷/۳ درصد افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد کاربرد این مواد بتواند با بهبود فراهمی عناصر غذایی و شرایط رشد گیاه، باعث افزایش شاخص‌های رشدی گیاه شده و تولید محصول را تحت تأثیر قرار دهد.

واژه‌های کلیدی: اصلاح‌کننده‌های آلی، تغذیه گیاه، زغال زیستی، کود زیستی، عناصر پر مصرف

کریمی ا.، شیرمردی م.، دهستانی اردکانی م.، کریمی م.، جلال غلام نژاد ج. ۱۳۹۹. تأثیر زغال زیستی و قارچ میکوریز بر خصوصیات رشدی و تغذیه گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.). تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۸، شماره ۲. صفحه: ۱۱۲-۱۲۸.

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان

۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان (مکاتبه کننده)

۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان

۴- استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

* پست الکترونیک: shirmardi@ardakan.ac.ir

مقدمه

مواد زائد (Lehmann & Joseph, 2009)، افزایش ارزش غذایی بقایا (افزایش عناصر ضروری و ظرفیت تبادل کاتیونی خاک) (Singh *et al.*, 2010)، افزایش عملکرد گیاهان به ویژه در خاک‌های مناطق گرم (Vaccari *et al.*, 2010; Van Zwieten *et al.*, 2011) و بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و حفظ ماده‌ی آلی خاک (Van Zwieten *et al.*, 2010) اشاره کرد. مواد آلی با تأثیری که بر جذب سطحی و واکنش‌های کمپلکس عناصر غذایی در خاک می‌گذارند قادرند بر فراهمی این عناصر نقش بسزایی داشته باشند (Bradl, 2004). این شرایط به خصوص در خاک‌های آهکی با pH بالا به دلیل پایین بودن قابلیت استفاده برخی از عناصر غذایی از جمله فسفر، آهن، روی، منگنز و مس می‌تواند اهمیت بیشتری داشته باشد. افزایش فراهمی مس، فسفر و پتاسیم و کاهش فراهمی منگنز، روی و منیزیم در اثر کاربرد زغال زیستی پوست گردو گزارش شده است (Novak *et al.*, 2009). در مناطق خشک و نیمه‌خشک برای بهره‌گیری از فواید مواد آلی ناچار به مصرف مقدار زیادی از کودهای آلی بوده که به دلیل تجزیه سریع این مواد، اثر بخشی آنها در مدت کوتاهی از بین رفته و کشاورزان ناچار به مصرف سالانه و مداوم آنها می‌باشند. این امر علاوه بر ایجاد مشکلات زیست محیطی، هزینه تولید را افزایش می‌دهد. گزارشات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد ماندگاری زغال زیستی در خاک در مقایسه با مواد آلی پیرولیز نشده در شرایط یکسان اقلیمی بالاتر می‌باشد (Baldock & Smernik, 2002). میانگین زمان ماندگاری زغال زیستی را بیش از ۱۰۰۰ سال ذکر کرده‌اند (Cheng *et al.*, 2008; Lehmann *et al.*, 2008). مطالعات زیادی در مورد تأثیر زغال زیستی بر محصولات صورت گرفته است. با این وجود تحقیقات مختلف گاه نتایج متناقضی را گزارش کرده‌اند. نتایج مثبت (Sinclair *et al.*, 2008; Chan *et al.*, 2007) منفی (Gaskin *et al.*, 2010; Asai *et al.*, 2009) و عدم تأثیر (Van Zwieten *et al.*, 2010; Asai *et al.*, 2009) در اثر کاربرد زغال زیستی بر پارامترهای مختلف گیاهی گزارش شده است. در سال‌های اخیر به دلیل آنکه تولید محصول اغلب متکی به استفاده از کودهای شیمیایی بوده، مسایل زیست محیطی مختلفی بروز کرده است که از آن جمله

گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) به عنوان یک گیاه دارویی در ایران و جهان از اهمیت بالایی برخوردار است. این گیاه یک‌ساله تا چندساله، متعلق به خانواده‌ی کاسنی بوده که بومی حوزه دریای مدیترانه، خاورمیانه و اروپای مرکزی می‌باشد. طول دوره رشد این گیاه ۲۰۰ تا ۲۱۰ روز می‌باشد. این گیاه دارای ماده موثره ارزشمند بوده که در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد. از مواد موثره در این گیاه می‌توان فلاونوئیدها، گلوکوزیدها، کاروتنوئیدها، و روغن‌های اسانسی ترپنی را نام برد (Mojtabavi & Darzi, 2018).

ایران دارای اقلیم خشک و نیمه‌خشک می‌باشد و به دلیل عدم برخورداری از پوشش گیاهی کافی، از نظر محتوای ماده‌ی آلی خاک دچار فقر می‌باشد. ماده آلی خاک علاوه بر تأثیر مثبتی که بر خصوصیات فیزیکی خاک دارد می‌تواند در حاصلخیزی خاک نیز نقش به‌سزایی داشته باشد (Tate, 2000). کشاورزان غالباً هر سال با مصرف کودهای آلی و شیمیایی به دنبال افزایش رشد و عملکرد می‌باشند. سوزاندن بقایای گیاهی (در مدیریت سنتی) و همچنین تجزیه آنها با تولید گازهای گلخانه‌ای می‌تواند باعث تغییر اقلیم شوند (Forster *et al.*, 2007). در کشاورزی پایدار توجه زیادی به کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای و بحث ترسیب کربن وجود دارد. اخیراً زغال زیستی بعنوان یک منبع کربنی و راهکاری برای کاهش انتشار دی‌اکسید کربن مورد توجه قرار گرفته است. زغال زیستی در اصل زغال تهیه شده از بقایای گیاهی می‌باشد که طی فرآیند پیرولیز^۱ در شرایط کمبود یا نبود اکسیژن تولید می‌شود (Glaser & Birk, 2012). ماندگاری زغال زیستی در خاک بسته به شرایط تولید آن، صدها و حتی هزاران سال برآورده شده است (Namgay *et al.*, 2010). خصوصیات زغال زیستی تولیدی تحت تأثیر ویژگی‌های ساختاری و شیمیایی مواد اولیه بوده و همچنین شرایط پیرولیز یا گرماکافت می‌تواند بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی زغال زیستی تولیدی مؤثر باشد (Winsley, 2007). از فواید زغال زیستی می‌توان به تولید انرژی، کاهش حجم

۱. Pyrolysis

برای کودهای شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات زغال زیستی به دست آمده از مواد حاصل از هرس درختان هلو بر برخی ویژگی‌های خاک و همچنین تأثیر زغال زیستی، قارچ میکوریز و برهمکنش آن‌ها بر پارامترهای رشدی و تغذیه‌ای گیاه همیشه بهار بود.

مواد و روش‌ها

تهیه زغال زیستی، قارچ میکوریز و بذر همیشه بهار
برای تهیه زغال زیستی به مقدار نیاز نمونه خشک شده بقایای حاصل از هرس درختان هلو از باغی در شهرستان سامان استان چهارمحال و بختیاری جمع آوری و در آزمایشگاه خاکشناسی دانشگاه شهرکرد، زغال زیستی مورد نیاز تهیه شد. برای تهیه زغال زیستی، نمونه‌ها در شرایط فاقد اکسیژن درون کوره الکتریکی با دمای ۴۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. برای این کار نمونه‌ها را ابتدا در داخل ظروف درب‌دار ریخته، سپس برای ایجاد شرایط بدون اکسیژن، چندین شمع در داخل کوره روشن شد تا اکسیژن باقیمانده در کوره و همچنین ظروف حاوی مواد اولیه مصرف شود و یا مقدار آن به حداقل رسیده و شرایط برای انجام فرآیند پیرولیز فراهم شود. درب کوره با گریس نسوز کاملاً درزگیری شد. قارچ میکوریز از شرکت زیست‌فناور پیش‌تاز واریان اصفهان تهیه شد. در هر گرم از قارچ میکوریز حداقل ۱۰۰ اندام فعال از سه گونه *Glomus mosseae*، *Glomus intraradices* و *Glomus etunicatum* وجود داشت. بذر همیشه بهار از شرکت نوین سبز پرور شهر ری در فرم پر، پر، رنگ مخلوط زرد و نارنجی، ارتفاع متوسط و تعداد بذر در هر گرم ۱۴۰ عدد تهیه شد.

اندازه‌گیری برخی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی خاک و

زغال زیستی

برای آنالیز خاک مورد استفاده در این تحقیق، مقداری از آن را از الک دو میلی‌متری عبور داده و سپس برخی خصوصیات فیزیکی شیمیایی خاک اندازه‌گیری شد. بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962)، EC و pH در عصاره اشباع (Haluschak, 2006)، کربن آلی به روش والکلی و بلک (Walkley & Black, 1934)، کاتیون‌های محلول از قبیل Ca و Mg در عصاره اشباع

می‌توان به تخریب ساختمان خاک و برهم خوردن تعادل بین عناصر غذایی در خاک اشاره کرد (Guarda et al., 2004). در نتیجه تامین عناصر غذایی از طریق کودهای زیستی کمک شایانی به کشاورزی پایدار خواهد کرد. کودهای زیستی مثل کودهای میکوریز، ضمن برتری قابل توجه نسبت به کودهای شیمیایی، باعث اصلاح ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک (Stark et al., 2007) و افزایش قابلیت جذب برخی از عناصر (Vessey, 2003) می‌شوند. استفاده از قارچ میکوریز می‌تواند حلالیت و کارایی جذب فسفر را به طور چشم‌گیری افزایش دهد (Douds & Millner, 1999). دات و همکاران (Dutt et al., 2013) گزارش کردند که با تلقیح گیاهان با قارچ میکوریز، غلظت عناصر Ca، Zn، Fe و Mn در گیاهچه‌های تلقیح شده افزایش یافت. آن‌ها این امر را به دلیل افزایش سطح جذب عناصر غذایی در ریزوسفر دانستند. این در حالی است که کاهش در غلظت Mn در گیاهان تلقیح شده با قارچ نیز گزارش شده است (Kotharie et al., 1991). نتایج تحقیقات حاکی از آن است که هم‌زیستی میکوریزی اثرات متفاوتی در جذب عناصر میکرو در گیاهان دارد. در تحقیقی قارچ میکوریز باعث بهبود جذب آب، افزایش فتوسنتز و عملکرد آفتابگردان شد (Akbari et al., 2009). همچنین بهبود رشد سبزی ریحان و افزایش وزن خشک آن با کاربرد قارچ میکوریز گزارش شده است (Sharifi et al., 2010). البته باید توجه داشت که اثر بخشی کود میکوریز مصرفی بستگی به ایجاد هم‌زیستی بین گیاه مورد نظر و میکوریزای مصرفی، فراهمی مواد آلی در خاک و توسعه این هم‌زیستی دارد (Douds & Millner, 1999).

با توجه به اینکه قسمت عمده کشور ایران دارای اقلیم خشک و نیمه‌خشک می‌باشد، کمبود مواد آلی در این خاک‌ها بسیار شایع است. با این وجود بسیاری از کشاورزان و باغداران برای از بین بردن ضایعات حاصل از فعالیت‌های کشاورزی (از قبیل مواد حاصل از هرس درختان)، اقدام به آتش زدن این مواد می‌کنند که ضمن ایجاد مسائل زیست محیطی باعث از دست رفتن منبع ارزشمندی از مواد آلی می‌شود. علاوه بر این در سال‌های اخیر کاربرد میکروارگانسیم‌های مفید خاکزی از قبیل قارچ‌های میکوریز آربسکولار به عنوان جایگزین مناسبی

ادامه پس از مناسب شدن رطوبت خاک، در هر گلدان سه بذر جوانه‌دار شده همیشه بهار کشت شد. پس از چهار برگی شدن تعداد گیاهان به دو عدد در هر گلدان کاهش یافت. قارچ میکوریز برای هر گلدان به صورت تماس مستقیم با ریشه گیاهچه‌ها به کار برده شد. آبیاری گلدان‌ها به صورت وزنی و پس از رسیدن رطوبت به ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه (FC) انجام شد. آبیاری به گونه‌ای بود که رطوبت خاک را مجدداً به ۱۰۰ درصد FC رسانده و زه‌آب از گلدان خارج نمی‌شد. گیاهان پس از شش ماه برداشت شدند و خصوصیات رشدی و غلظت برخی عناصر در آنها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پارامترهای رشدی

میزان کلروفیل برگ توسط دستگاه کلروفیل‌متر مدل SPAD-502 در اواخر دوره رشد اندازه‌گیری شد. سطح برگ با استفاده از Leaf Area Meter (مدل WinArea_UT_11 ساخت ایران)، اندازه‌گیری شد. پس از اتمام دوره رشد، ارتفاع گیاه، وزن خشک گل، قطر گل و وزن خشک اندام هوایی اندازه‌گیری شد. وزن خشک گل و اندام هوایی گزارش شده مربوط به تمام گیاهان هر گلدان می‌باشد.

اندازه‌گیری غلظت عناصر در گیاه

برای اندازه‌گیری غلظت عناصر در اندام هوایی، گیاهان هر گلدان از روی خاک بریده شده و پس از شستشو با آب مقطر، ابتدا بر روی روزنامه قرار داده شدند تا هوا خشک شوند. سپس نمونه‌های گیاهی در پاکت‌های کاغذی در آن در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند. کل اندام هوایی به منظور آنالیز عناصر آسیاب شدند. سپس نمونه‌های گیاهی با استفاده از اسید کلریدریک غلیظ به روش هضم خشک، هضم شدند (Cottenie, 1980). در نمونه‌های هضم شده غلظت فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم اندازه‌گیری شد. غلظت فسفر در نمونه‌ها به روش نیترو و آنادومولیبدات با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل JENUS-UV-1200) در طول موج ۴۳۰ نانومتر، اندازه‌گیری شد (Murphy & Riley, 1962). غلظت پتاسیم نمونه‌های گیاهی با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر (مدل JENWAY-PFP7) اندازه‌گیری شد. کلسیم و منیزیم به روش کمپلکسومتری و

(Richards, 1954)، پتاسیم قابل جذب با روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم یک نرمال (Johnson & Goulding, 1990) و فسفر قابل جذب به روش اولسن (Watanabe & Olsen, 1965) اندازه‌گیری شد. در مورد زغال زیستی استفاده شده، EC و pH در عصاره ۱:۱۰ اندازه‌گیری شد (Zhang et al., 2013). نتایج آنالیز خاک و زغال زیستی در جدول ۱ آورده شده است. عملکرد زغال زیستی بر حسب وزن زغال زیستی تولیدشده در واحد وزن خشک ماده اولیه با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Song & Guo, 2012).

$$(1) \quad \frac{(g) \text{ وزن زغال زیستی}}{(g) \text{ وزن خشک بقایا}} \times 100 = (\%) \text{ عملکرد زغال زیستی}$$

برای تعیین محتوای خاکستر زغال زیستی از روش استاندارد ASTM D-2866 استفاده شد. به این صورت که ابتدا پنج گرم نمونه زغال زیستی خشک شده در آن را در بوته چینی ریخته و به مدت هشت ساعت در دمای ۵۰۰ درجه سلسیوس در شرایط حضور اکسیژن قرار داده شد. پس از سرد شدن نمونه در دسیکاتور، وزن خاکستر اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه ۲ محتوای خاکستر بر حسب درصد تعیین شد (Song & Guo, 2012).

$$(2) \quad \frac{\text{وزن خاکستر (g)}}{\text{وزن زغال زیستی (g)}} \times 100 = \text{محتوای خاکستر (\%)}$$

کشت گیاه و اعمال تیمارها

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۶ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد انجام شد. تیمارها شامل سه سطح زغال زیستی (صفر، دو و چهار درصد وزنی-وزنی) و دو سطح قارچ میکوریز (عدم تلقیح و تلقیح با قارچ میکوریز) با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. مقدار کود میکوریز مصرفی بر اساس توصیه شرکت تولید کننده (شرکت زیست‌فناور پیش‌تاز واریان) به میزان ۳۵ گرم در کیلوگرم خاک انجام شد. زغال زیستی تهیه شده ابتدا از الک دو میلی‌متر عبور داده شد و با خاک به خوبی مخلوط و در گلدان ریخته شد. گلدان‌هایی با ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر و قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفت. پس از اختلاط زغال زیستی با خاک بر اساس تیمارهای مورد نظر، نمونه‌ها به میزان سه کیلوگرم در گلدان‌ها ریخته شدند و انکوباسیون آن‌ها به مدت دو ماه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. در

(Walkley & Black, 1934) و غلظت آهن، روی و منگنز قابل استخراج با DTPA (Lindsay & Schwab, 1982) اندازه گیری شد.

آنالیز آماری

داده‌های آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 مورد آنالیز قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD، در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

از آنجا که برای این مطالعه، خاک غیر شور که محتوای کربن آلی آن بالا نباشد مورد نیاز بود از باغی در شهرکرد نمونه برداری صورت گرفت. آنالیز اولیه در ارتباط با شوری، pH، بافت و غلظت برخی از عناصر غذایی بر روی خاک صورت گرفت. در ارتباط با زغال زیستی نیز شاخص‌های مورد توجه شوری، درصد کربن آلی، درصد عملکرد و غلظت عناصر بود. نتایج آنالیز خاک و زغال زیستی مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است.

تیتراسیون با EDTA اندازه‌گیری شد (Ehyaei & Behbahanizade, 1991). از معرف اریوکروم‌بلکتی برای اندازه‌گیری مجموع کلسیم و منیزیم و برای اندازه‌گیری کلسیم از مورکسید به عنوان معرف استفاده شد. غلظت عناصر Fe، Zn و Mn در عصاره حاصل از هضم خشک با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Perkin Elmer, USA make Analyst 400) اندازه‌گیری شد.

تأثیر زغال زیستی بر برخی خصوصیات خاک

به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف زغال زیستی بقایای حاصل از هرس هلو (صفر، دو و چهار درصد وزنی-وزنی) بر برخی خصوصیات خاک، پس از اتمام رشد گیاه (دوره شش ماهه)، خاک گلدان‌ها خشک شده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. ویژگی‌هایی از قبیل EC و pH عصاره اشباع، پتاسیم قابل جذب با روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم یک نرمال (Johnson & Goulding, 1990)، فسفر به روش اولسن (Watanabe & Olsen, 1965)، کلسیم و منیزیم عصاره اشباع (Gupta, 1999)، کربن آلی به روش والکلی و بلک

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک و زغال زیستی استفاده شده در مطالعه

Table 1. Some physicochemical properties of soil and biochar used in study

Sample	EC	pH	Organic Carbon	Available K	Available P	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Sand	Silt	Clay	Texture	Ash content	Biochar yield
	dS m ⁻¹		%	mg kg ⁻¹		meq l ⁻¹			%			(%)	
Soil	0.226	8.00	0.640	221	5.4	1.60	1.10	18.4	49.0	32.6	Silty Clay Loam	-	-
Biochar	0.245	7.83	54.8	483	30.6	1.20	0.700	-	-	-	-	45.2	31.3

در حالی است که کاربرد زغال زیستی اثر معنی‌داری بر pH خاک، فسفر قابل جذب، Fe و Zn نشان نداد (جدول ۲).

تأثیر زغال زیستی بر برخی ویژگی‌های خاک مورد مطالعه

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که کاربرد زغال زیستی تأثیر معنی‌داری بر EC، OC، پتاسیم قابل جذب، کلسیم، منیزیم و Mn در سطح یک درصد داشت. این

جدول ۲- آنالیز واریانس پارامترهای اندازه‌گیری شده در خاک تحت تأثیر زغال زیستی

Table 2. Variance analysis of evaluated parameters in soil under the influence of biochar

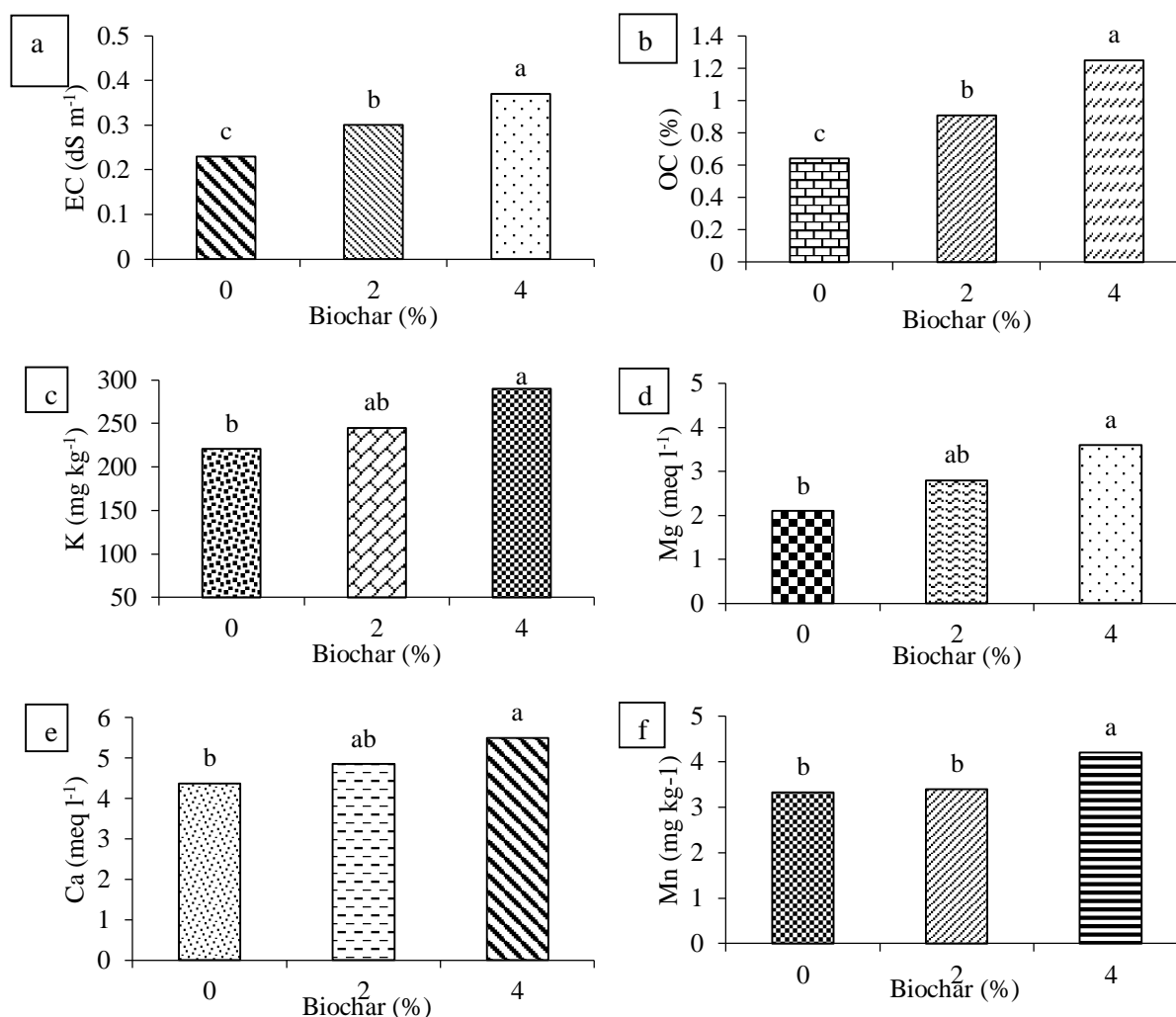
Source of Variation	Df	Mean Square									
		EC	pH	OC	K	P	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn
Biochar rate (B)	2	0.06**	0.026 ^{ns}	0.08**	6219**	1.23 ^{ns}	0.49**	5.8**	0.12 ^{ns}	0.0007 ^{ns}	0.28**
Error	6	0.005	0.006	0.005	65.3	0.47	0.005	0.05	0.09	0.008	0.02
Coefficient of Variation(CV) %		6.2	3.2	3.8	7.2	6.3	2.3	10.2	6.8	7.9	3.1

**، * و ^{ns} به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح یک، پنج درصد و غیر معنی‌دار

**، *، ^{ns}: Significantly difference at 1, 5% probability levels and non-significant, respectively.

بود (شکل ۱b). اضافه کردن چهار درصد زغال زیستی توانست پتاسیم قابل جذب، Ca، Mg و Mn نسبت به شاهد را به ترتیب ۳۱/۲، ۲۵/۸، ۷۱/۴ و ۲۷/۳ درصد افزایش دهد. با این وجود تیمار دو درصد زغال زیستی تفاوت معنی‌داری در این پارامترها نسبت به شاهد ایجاد نکرد (شکل ۱c، ۱d، ۱e و ۱f).

نتایج مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح پنج درصد نشان داد که کاربرد دو و چهار درصد زغال زیستی در خاک، EC خاک را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (به ترتیب ۲۹/۲ و ۵۸/۶ درصد افزایش نسبت به شاهد) (شکل ۱a). درصد OC خاک با اضافه کردن دو و چهار درصد زغال زیستی به طور معنی‌داری افزایش یافت و تیمار چهار درصد بالاترین درصد را دارا



شکل ۱- تأثیر زغال زیستی بر EC (a)، OC (b)، K (c)، Mg (d)، Ca (e) و Mn (f) خاک

Figure 1. Effect of biochar on EC (a), OC (b), K (c), Mg (d), Ca (e) and Mn (f) in soil

میانگین‌های با حرف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد هستند.

Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level.

اما فسفر و روی در خاک تحت تأثیر قرار نگرفت. با این وجود دیوبند هفشجانی و همکاران (Divband hafshejani *et al.*, 2016) بیان داشتند که با کاربرد زغال زیستی باگاس نیشکر، فسفر قابل جذب افزایش داشته است. نیگاسی و همکاران (Nigussie *et al.*, 2012) و مستو و همکاران (Masto *et al.*, 2013) گزارش کردند که کاربرد زغال زیستی در خاک باعث

نتایج تحقیقات مختلف حاکی از آن است که کاربرد زغال زیستی در خاک، خصوصیات شیمیایی خاک از قبیل pH، EC و عناصر قابل جذب را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Farrell *et al.*, 2013; Karami *et al.*, 2011). مشابه با نتایج این تحقیق، نجفی قیری (Najafi ghiri, 2015) گزارش کرد که با مصرف زغال زیستی در خاک، کربن آلی خاک، EC، پتاسیم قابل جذب افزایش یافت

معنی‌داری نشان داد. تیمار زغال زیستی هم در حضور قارچ و هم در عدم حضور آن افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان می‌دهد (جدول ۴).

ارتفاع گیاه: نتایج مقایسات میانگین نشان داد که تنها کاربرد همزمان قارچ میکوریز و چهار درصد زغال زیستی توانست ارتفاع گیاه را نسبت به شاهد افزایش دهد (۱۸/۶ درصد افزایش نسبت به شاهد). این در حالی است که کاربرد همزمان این دو تیمار نسبت به کاربرد مجزای آنها تفاوت معنی‌داری نداشت. دیگر تیمارها چه به صورت مجزا و چه به صورت توأم نتوانستند افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد منجر شوند (جدول ۴).

سطح برگ: نتایج جدول ۴ نشان داد که بالاترین سطح برگ در تیمار کاربرد همزمان قارچ و چهار درصد زغال زیستی وجود داشت که نسبت به شاهد، ۵/۴ درصد افزایش نشان داد. این تیمار نسبت به کاربرد چهار درصد زغال زیستی به تنهایی نیز افزایش معنی‌دار نشان داد.

قطر ساقه: نتایج مقایسه میانگین برهمکنش قارچ و زغال زیستی نشان داد که تنها کاربرد همزمان قارچ میکوریز و چهار درصد زغال زیستی توانست قطر ساقه را نسبت به شاهد و تیمار مجزای هر کدام از آنها به طور معنی‌داری افزایش دهد (۳۷/۲ درصد افزایش در تیمار کاربرد همزمان قارچ میکوریز و چهار درصد زغال زیستی نسبت به شاهد) و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با شاهد از نظر قطر ساقه نداشتند (جدول ۴).

زمان لازم تا گلدهی: نتایج نشان داد که تمام تیمارها باعث کاهش معنی‌دار در تعداد روز تا گلدهی نسبت به شاهد شدند (جدول ۴).

وزن خشک گیاه: نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تیمارها نشان داد که تیمار کاربرد همزمان قارچ میکوریز و دو درصد زغال زیستی و همچنین تیمار کاربرد همزمان قارچ میکوریز و چهار درصد زغال زیستی باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک گیاه نسبت به شاهد (به ترتیب افزایش ۶/۸ و ۲۰/۷ درصدی نسبت به شاهد) و تیمارهای مجزای آنها شد. دیگر تیمارها نتوانستند افزایش معنی‌داری در وزن گیاه را موجب شوند (جدول ۴).

افزایش pH، EC، OC و فسفر قابل جذب شد. آن‌ها افزایش عناصر در خاک را به افزایش pH و افزوده شدن مستقیم عناصر توسط زغال زیستی نسبت دادند. بهشتی و همکاران (Beheshti et al., 2014) بیان داشتند که احتمالاً به دلیل اثر زغال زیستی بر pH خاک و رسوب فسفر به شکل فسفات‌های کلسیم در خاک، فسفر خاک با گذشت زمان کاهش یافته است. با این وجود الزوبیر و همکاران (Elzobair et al., 2016) تغییر اندک در pH خاک‌های آهکی با اضافه کردن زغال زیستی را مربوط به خاصیت بافری شدید این خاک‌ها دانستند.

نتایج تأثیر تیمارها بر گیاه همیشه بهار

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر کاربرد زغال زیستی بر محتوای کلروفیل برگ، قطر گل، قطر ساقه و غلظت فسفر در گیاه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. همچنین کاربرد زغال زیستی اثر معنی‌داری در سطح پنج درصد بر زمان گلدهی و غلظت کلسیم در گیاه داشت (جدول ۳). کاربرد قارچ میکوریز تأثیر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل، قطر گل، سطح برگ، قطر ساقه و غلظت فسفر داشت. اثر متقابل سطح زغال زیستی و قارچ میکوریز بر تمام صفات ارزیابی شده به جز وزن خشک گل و غلظت منیزیم معنی‌دار بود (جدول ۳).

شاخص‌های مرفوفیز یولوژیک همیشه بهار پارامترهای رویشی:

کلروفیل: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد همزمان قارچ میکوریز و زغال زیستی توانست باعث افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل برگ نسبت به شاهد شود. کاربرد همزمان قارچ میکوریز و چهار درصد وزنی زغال زیستی دارای بالاترین محتوای کلروفیل بود (افزایش ۲۸/۱ درصدی و معنی‌دار نسبت به شاهد) و نسبت به کاربرد مجزای هر کدام از این تیمارها افزایش معنی‌دار نشان داد. هیچکدام از سطوح زغال زیستی بدون حضور قارچ میکوریز نتوانستند کلروفیل برگ را نسبت به شاهد به طور معنی‌دار افزایش دهند (جدول ۴).

قطر گل: نتایج مقایسه میانگین برهمکنش قارچ و زغال زیستی نشان داد که تیمار کاربرد توأم چهار درصد زغال زیستی و قارچ میکوریز دارای بالاترین قطر گل بود و نسبت به کاربرد مجزای هر کدام از این تیمارها افزایش

جدول ۳- آنالیز واریانس پارامترهای اندازه‌گیری شده در گیاه همیشه بهار تحت تأثیر زغال زیستی، قارچ میکوریز و برهمکنش آنها

Table 3. Variance analysis of evaluated parameters in calendula (*Calendula officinalis L.*), under the influence of biochar, mycorrhizal fungi and their interaction

Source of Variation	df	Mean Square											
		Chlorophyll Index (Spad Value)	Flower diameter	PlantHeight	Leaf Area	Flower Dry Weight	Stem Diameter	Time to Flowering	Plant Dry Weight	P	K	Ca	Mg
Biochar rate (B)	2	22.3**	1.17**	4.6 ^{ns}	111 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.910**	1554*	0.290 ^{ns}	0.030**	0.340 ^{ns}	0.120*	0.040 ^{ns}
Mycorrhizal Fungi (MF)	1	230**	0.290**	16.0 ^{ns}	3574**	0.00005 ^{ns}	2.51**	296 ^{ns}	0.240 ^{ns}	0.016**	0.160 ^{ns}	0.110 ^{ns}	0.170 ^{ns}
B×MF	2	33.13**	0.260**	22.2*	2459**	0.00001 ^{ns}	1.08**	2724**	1.33*	0.008**	0.810*	0.110*	0.400 ^{ns}
Error	12	2.94	0.020	5.56	354	0.0002	0.130	384	0.250	0.001	0.140	0.020	0.106
Coefficient of Variation (CV) %		4.70	3.07	8.30	3.29	14.1	12.2	15.2	16.9	8.23	14.1	6.80	2.99

, *, ^{ns}: Significantly difference at 1, 5% probability levels and non-significant, respectively., * و ^{ns} به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح یک، پنج درصد و غیر معنی‌دار

زیستی به دست آمد که افزایش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد (۳۷ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد). سایر تیمارها اثر معنی داری بر غلظت پتاسیم گیاه نداشتند (جدول ۴).

غلظت کلسیم: تمام تیمارهای زغال زیستی و قارچ میکوریز، غلظت Ca را نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۴). این در حالی است که با کاربرد توام قارچ و سطوح مختلف زغال زیستی نسبت به تیمار مجزای هر کدام از آنها تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

غلظت برخی عناصر ماکرو در گیاه

غلظت فسفر گیاه: نتایج جدول ۴ نشان داد که تنها تیمار دو درصد زغال زیستی نتوانست غلظت فسفر را در گیاه افزایش دهد و سایر تیمارها منجر به افزایش معنی دار در غلظت فسفر نسبت به شاهد شدند. بیشترین غلظت فسفر در تیمار کاربرد همزمان قارچ و چهار درصد زغال زیستی مشاهده شد که نسبت به شاهد ۶۷/۸ درصد افزایش نشان می دهد که این افزایش معنی دار بود.

غلظت پتاسیم: نتایج نشان داد که بیشترین غلظت پتاسیم با کاربرد قارچ میکوریز و چهار درصد زغال

جدول ۴- مقایسه میانگین برهمکنش زغال زیستی و قارچ میکوریز بر صفات مورد ارزیابی در گل همیشه بهار

Table 4. Mean comparison of interaction of biochar and mycorrhizal fungi on evaluated traits of calendula (*Calendula officinalis L.*)

Fungi	Biochar (%)	Chlorophyll Index	Flower diameter	Plant Height	Leaf Area	Stem Diameter	Time to Flowering	Plant Dry Weight	P	K	Ca
		Spad Value	cm in plant	cm ² in plant	mm	day	g	%	%	%	
non-Mycorrhizal Fungi	0	34.2cd	4.27d	25.3b	562b	2.77b	159a	2.93b	0.280e	2.27b	1.97b
	2	32.3d	4.63c	28.7ab	557b	2.80b	124 b	2.67b	0.310de	2.76ab	2.34a
	4	31.6d	5.10b	27.7ab	561b	2.90b	114b	2.93b	0.460ab	2.71ab	2.45a
Mycorrhizal Fungi	0	37.1bc	4.46cd	29.0ab	579ab	2.90b	124b	2.73b	0.380bc	2.59ab	2.45a
	2	38.6b	4.90b	28.3ab	579ab	3.10b	131b	3.10a	0.340cd	2.61ab	2.35a
	4	43.8a	5.40a	30.0a	592a	3.80a	118b	3.50a	0.470a	3.11a	2.44a

میانگین‌های با حرف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد می باشد.

Means with the same letter in each column were not significantly different at $p < 0.05$.

کاربرد همزمان زغال زیستی و قارچ میکوریز نشان داد که تنها کاربرد چهار درصد زغال زیستی به همراه قارچ میکوریز منجر به افزایش معنی دار غلظت آهن نسبت به شاهد شد (۱۸/۸ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد) و سایر تیمارها نتوانستند اثر معنی داری بر غلظت Fe داشته باشند (شکل ۲a). نتایج مقایسات میانگین حاکی از این بود که تیمارهای کاربرد چهار درصد زغال زیستی به تنهایی و همچنین کاربرد همزمان چهار درصد زغال زیستی و قارچ میکوریز نتوانست غلظت روی را در اندام هوایی گیاه نسبت به شاهد به ترتیب ۱۳/۷ و ۱۹/۵ درصد افزایش دهد. این در حالی است که بین تیمار چهار درصد زغال زیستی و تیمار چهار درصد زغال زیستی+قارچ میکوریز تفاوت معنی داری وجود نداشت. سایر تیمارها تفاوت معنی داری نسبت به شاهد از نظر غلظت روی نشان ندادند (شکل ۲b).

غلظت منیزیم: نتایج آنالیز واریانس و مقایسات میانگین نشان داد که هیچکدام از تیمارها چه به صورت جداگانه و چه به صورت کاربرد همزمان تأثیر معنی داری بر غلظت Mg گیاه نداشتند (جدول ۳).

غلظت برخی عناصر میکرو در گیاه

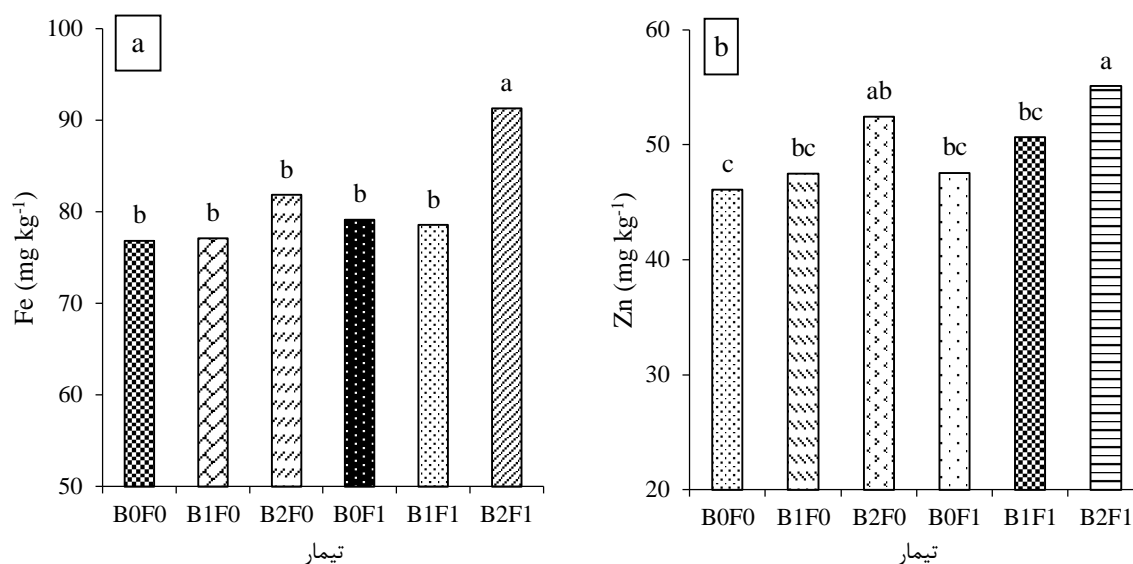
نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر برهمکنش زغال زیستی و قارچ میکوریز بر غلظت Fe در اندام هوایی در سطح پنج درصد و بر غلظت Zn در اندام هوایی گیاه همیشه بهار در سطح یک درصد معنی دار بود. این در حالی است که برهمکنش زغال زیستی و قارچ میکوریز اثر معنی داری بر غلظت Mn در اندام هوایی نداشت. همچنین نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر زغال زیستی بر غلظت سه عنصر Fe، Zn و Mn در سطح یک درصد معنی دار بود اما قارچ میکوریز فاقد اثر معنی دار بر غلظت این عناصر بود (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین

جدول ۵- آنالیز واریانس غلظت عناصر میکرو در گیاه همیشه بهار تحت تأثیر زغال زیستی، قارچ میکوریز و برهمکنش آنها
Table 5. Variance analysis of concentration of microelements in calendula (*Calendula officinalis L.*), under the influence of biochar, mycorrhizal fungi and their interaction.

Source of Variation	Df	Mean Square		
		Fe	Zn	Mn
Biochar rate (B)	2	449.62**	199.4**	279.09**
Mycorrhizal Fungi (MF)	1	261.36 ^{ns}	58.07 ^{ns}	42.67 ^{ns}
B×MF	2	278.29*	175.15**	6.22 ^{ns}
Error	12	67.86	24.59	34.67
Coefficient of Variation(CV)		10.2	9.9	6.6

**، *، ^{ns} به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح یک، پنج درصد و غیر معنی دار

**، *، ^{ns}: Significantly difference at 1, 5% probability levels and non-significant, respectively.



شکل ۲- تأثیر برهمکنش زغال زیستی و قارچ میکوریز بر غلظت آهن (a) و روی (b) در گیاه همیشه بهار

Figure 2. Effect of interaction of biochar and mycorrhizal fungi on Fe (a) and Zn concentration (b) of calendula (*Calendula officinalis L.*)

(B0, B1 and B2: application of 0, 2 and 4% biochar; F0 and F1: non inoculation and inoculation with mycorrhizal fungi respectively)

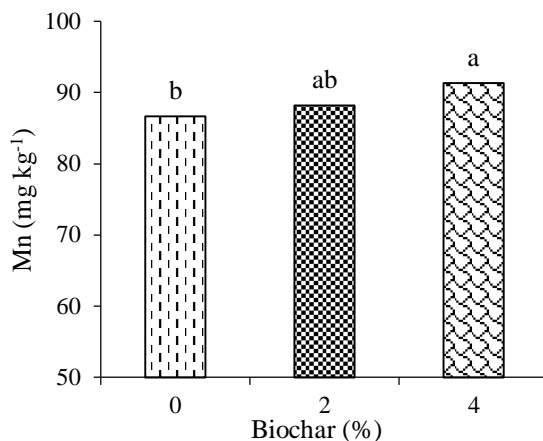
(B0, B1 and B2: application of 0, 2 and 4% biochar; F0 and F1: non inoculation and inoculation with mycorrhizal fungi respectively)

میانگین‌های با حرف مشترک فاقد تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد هستند.

Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level.

در حالی که کاربرد دو درصد زغال زیستی تفاوت معنی-داری نسبت به تیمار شاهد و چهار درصد زغال زیستی نشان نداد (شکل ۳).

نتایج مقایسه میانگین اثر زغال زیستی بر غلظت Mn به روش دانکن در سطح پنج درصد نشان داد که کاربرد چهار درصد زغال زیستی منجر به افزایش معنی دار Mn نسبت به شاهد شد (۵/۴ درصد افزایش نسبت به شاهد)



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف زغال زیستی بر غلظت منگنز در همیشه بهار

Figure 3. Effect of different levels of biochar on Mn concentration of calendula (*Calendula officinalis L.*)

کردند که با کاربرد زغال زیستی عملکرد ذرت در دو رژیم رطوبتی (تنش و عدم تنش) افزایش یافت. آنها بیان داشتند که کاربرد زغال زیستی باعث افزایش سرعت انتقال الکترون و فتوسنتز II و در نتیجه تحریک فتوسنتز شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار چهار درصد زغال زیستی و قارچ میکوریز به صورت مجزا به ترتیب باعث افزایش ۶۴/۳ و ۳۵/۷ درصدی در غلظت فسفر نسبت به شاهد شد. علاوه بر این کاربرد زغال زیستی به تنهایی غلظت کلسیم را در گیاه افزایش داد. به نظر می‌رسد زغال زیستی به کار رفته با توجه به نتایج آنالیز زغال زیستی، باعث اضافه شدن مقداری از عناصری غذایی از قبیل فسفر، پتاسیم و کلسیم به خاک شده است. علاوه بر این ممکن است بخشی از این عناصر از فاز آلی وارد فاز معدنی شده و در نتیجه برای گیاه قابل دسترس شده باشند. همچنین این احتمال وجود دارد که زغال زیستی به طور غیر مستقیم و از طریق ترکیباتی مانند اسیدهای آلی بر فراهمی عناصر تأثیر گذاشته باشد. برآیند کلی این مکانیسم‌ها در نهایت منجر به افزایش غلظت برخی عناصر و شاخص‌ها از قبیل محتوای کلروفیل شد (He *et al.*, 2014). علاوه بر این کاربرد چهار درصد زغال زیستی منجر به افزایش غلظت Zn و Mn نسبت به شاهد شد که با نتایج Novak *et al.*, 2009 همخوانی نداشت.

تیمار کاربرد همزمان قارچ میکوریز و چهار درصد زغال زیستی منجر به افزایش معنی‌دار غلظت پتاسیم در اندام هوایی گیاه شد. زینال و همکاران (Zainul *et al.*, 2017)

استفاده از اصلاح کننده‌های آلی می‌تواند با بهبود شرایط محیط رشد گیاه باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه و همچنین افزایش جذب عناصر غذایی در شرایط کمبود شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تلقیح همزمان قارچ میکوریز و زغال زیستی توانست پارامترهای رشدی از قبیل وزن خشک، سطح برگ، ارتفاع گیاه، قطر گل و محتوای کلروفیل را نسبت به شاهد به طور معنی‌دار افزایش دهد. در سال‌های اخیر برخی مطالعات نشان داده است که زغال زیستی به عنوان یک اصلاح کننده در خاک‌های فقیر از نظر مواد غذایی می‌تواند باعث تحریک رشد گیاه و دستیابی به عملکرد مناسب شود (Ahmad *et al.*, 2015; Asai *et al.*, 2009). اضافه کردن زغال زیستی در خاک‌های فقیر از نظر عناصر تغذیه‌ای باعث افزایش فتوسنتز و رشد گیاه (Koirala & Jha, 2013) و بیومس گیاهی (Gul *et al.*, 2013) شده است. این در حالی است که زینال و همکاران (Zainul *et al.*, 2017) گزارش کردند که با کاربرد یک و نیم درصد زغال زیستی هیچ تغییری در مقدار SPAD که بیانگر محتوای کلروفیل است نسبت به شاهد مشاهده نشد. مشابه با نتایج این تحقیق زینال و همکاران (Zainul *et al.*, 2017) بیان کردند که وزن تر و خشک ساقه، ریشه و سطح برگ با اضافه کردن زغال زیستی افزایش معنی‌دار داشت. افزایش سطح برگ نسبت به ضخامت برگ و تعداد برگ می‌تواند موجب افزایش سطح فعال فتوسنتزی شود (Enrique *et al.*, 2016). حیدر و همکاران (Haider *et al.*, 2015) نیز گزارش

آهکی می‌باشند واکنش فسفات با خاک تحت تأثیر وجود کربنات کلسیم می‌باشد که این واکنش در غلظت‌های کم به صورت جذب سطحی مقادیر اندکی از یون‌های فسفات در مکان‌های ویژه جذبی در سطح کلسیت می‌باشد. در غلظت‌های بالا این واکنش‌ها به صورت رسوب می‌باشد. برخی اثر مثبت قارچ میکوریز را ناشی از افزایش حلالیت فسفر توسط این میکروارگانیسم‌ها بیان کرده‌اند (Rouphael *et al.*, 2015). افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر می‌تواند به دلیل کاهش غلظت بحرانی عنصر غذایی مورد نظر (Nadeem *et al.*, 2014)، افزایش حجم خاک در دسترس ریشه گیاه و همچنین افزایش سطح ویژه ریشه گیاه (Shirmardi *et al.*, 2010) باشد. محمد و همکاران (Mohammad *et al.*, 2003) گزارش کردند که تلقیح گیاهان با قارچ میکوریز آریسکولار، وزن خشک و ارتفاع گیاه را افزایش داد. غلظت فسفر در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز نسبت به گیاهان تلقیح نشده بالاتر بود که با یافته‌های این تحقیق همخوانی دارد. همچنین آنها گزارش کردند غلظت پتاسیم گیاه با کاربرد تیمار قارچ میکوریزی دچار تغییر معنی‌داری نشد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. تلقیح گیاهان با قارچ میکوریز نتوانست منجر به افزایش غلظت عناصر Fe، Zn و Mn نسبت به شاهد شود که با نتایج شیرمردی و همکاران (Shirmardi *et al.*, 2010) همخوانی داشت. کاربرد همزمان چهار درصد زغال زیستی و قارچ میکوریز منجر به افزایش معنی‌دار غلظت Fe و Zn نسبت به شاهد شد و این امر بیانگر برهمکنش مثبت بین قارچ میکوریز و زغال زیستی بود. به نظر می‌رسد که کاربرد زغال زیستی و قارچ میکوریز بتواند باعث بهبود پارامترهای رشدی و تغذیه‌ای گیاه همیشه بهار شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از قارچ میکوریز و همچنین زغال زیستی تهیه شده از بقایای حاصل از هرس درختان هلو، اثر مثبت و معنی‌داری بر شاخص‌های رشدی و تغذیه برخی از عناصر داشت. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که کاربرد همزمان چهار درصد زغال زیستی بقایای هرس درختان هلو و قارچ میکوریز، منجر به افزایش معنی‌دار شاخص‌های

گزارش کردند که غلظت پتاسیم شاخساره در تیمار زغال زیستی بالاترین مقدار بود. آنها همچنین بیان کردند که کاربرد زغال زیستی، محتوای کلسیم برگ را افزایش داده ولی بر غلظت کلسیم شاخه و ریشه تأثیری نداشت. اشمیت و همکاران (Schmidt *et al.*, 2014) بیان کردند که زغال زیستی با افزایش محتوای عناصر در خاک به گیاهان این امکان را می‌دهد که نسبت طول ریشه به وزن ریشه را کاهش داده و در نتیجه نسبت ساقه به ریشه افزایش یابد و با این فعالیت سطح فعال فتوسنتزی گیاه افزایش یابد. بنابراین گیاه قادر است با بهبود فراهمی عناصر غذایی بیومس خود را افزایش دهد. در حالی که در گیاه شاهد که با زغال زیستی تیمار نشده به دلیل پایین‌تر بودن محتوای عناصر غذایی، بیشتر بیومس گیاهی صرف تولید و توسعه ریشه شده و تولید اندام هوایی کاهش یافت. تولید بیومس در گیاهان تابع جذب عناصر از محیط رشد و انتقال آنها به ساقه می‌باشد (Schmidt *et al.*, 2014). در سیکل خشک شدن خاک، تغییر در سطح آب خاک می‌تواند بر جذب پتاسیم، کلسیم و منیزیم موثر باشد (Nguyen & Marshner, 2005). زغال زیستی می‌تواند به عنوان محلی برای انجام تبادلات یونی ایفای نقش کند و مقدار زیادی از کاتیون‌ها را باند کند (Chan *et al.*, 2007) و از این طریق منبعی برای نگهداری عناصری از قبیل K^+ ، Ca^{2+} و Mg^{2+} باشد. کاربرد دو و چهار درصد زغال زیستی تأثیری بر غلظت Mg نداشت که مشابه این نتایج توسط زینال و همکاران (Zainul *et al.*, 2017) گزارش شده است که بیان کردند کاربرد زغال زیستی محتوای Mg ریشه و ساقه را افزایش نداد. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد قارچ میکوریز به تنهایی باعث افزایش محتوای کلروفیل، سطح برگ، قطر ساقه و غلظت فسفر در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد شد. میرانصاری و همکاران (Miransari *et al.*, 2007) گزارش کردند که قارچ‌های میکوریز از طریق افزایش سطح جذب ریشه و نفوذ به درون منافذ ریز خاک که غیر قابل دسترس برای ریشه گیاه می‌باشد، رشد و عملکرد گیاهان را به واسطه افزایش جذب آب و عناصر غذایی ضروری برای گیاه افزایش می‌دهند. تعاملات پیچیده فسفر با خاک به دو صورت جذب سطحی و رسوب فسفات‌های کلسیم، آهن و آلومینیم می‌باشد. در مورد خاک‌های ایران که غالباً

Ca و Mg در خاک را افزایش دهد ولی تأثیری بر فسفر قابل جذب نداشت. به نظر می‌رسد که با توجه به پایین بودن محتوای کربن آلی در خاک‌های ایران به ویژه خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک، کاربرد مقدار مناسب زغال زیستی حاصل از ضایعات بخش کشاورزی، بتواند ضمن کاهش مسائل زیست محیطی ناشی از آتش زدن این ضایعات، اثرات مثبتی بر رشد و تغذیه گیاهان داشته باشد. در نهایت پیشنهاد می‌شود مقرون به صرفه بودن استفاده از زغال زیستی و امکان جایگزینی آن با کودهای آلی رایج، در مطالعات آتی مورد توجه قرار گیرد.

کلروفیل، قطر گل، قطر ساقه و وزن خشک اندام هوایی نسبت به کاربرد مجزای این تیمارها و همچنین شاهد شد. با این وجود کاربرد زغال زیستی و قارچ میکوریز به تنهایی نیز اثرات مثبت و معنی‌داری بر شاخص‌های رشدی مانند قطر ساقه و گل، کلروفیل و غلظت فسفر داشتند. نکته حائز اهمیت آن است که مقدار زغال زیستی مصرفی در اثربخشی آن تأثیر غیر قابل انکاری داشت و کاربرد چهاردرصد زغال زیستی توانست بسیاری از ویژگی‌های اندازه‌گیری شده را به طور معنی‌دار افزایش دهد در حالی که تیمار کاربرد دو درصد زغال زیستی اینگونه نبود. کاربرد چهاردرصد زغال زیستی توانست برخی از عناصر ضروری برای گیاه از قبیل K،

References

- Ahmad N. 2015. Soil water management systems for a drier Caribbean. *CARDI Review*, 16: 34-53.
- Akbari P., Ghalavand A., and Modarres Sanavi S.A.M. 2009. Effects of Different Nutrition Systems (Organic, Chemical and Integrated) and Biofertilizer on Yield and Other Growth Traits of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Agriculture Science*, 1: 83-93. (In Persian)
- Asai H., Samson B.K., Stephan H.M., Songyikhangsuthor K., Homma K., Kiyono Y., Inoue Y., Shiraiwa T., and Horie T. 2009. Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos. 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. *Field Crops Research*, 111: 81-84.
- Baldock J.A., and Smernik R.J. 2002. Chemical composition and bioavailability of thermally altered *Pinus resinosa* (red pine) wood. *Organic Geochemistry*, 33: 1093-1109.
- Beheshti M., Alikhani H., and Motesarezadeh B. 2014. Study of the effect of biochar and vermicompost on soil available phosphorus. M.Sc. thesis. Soil science department. University of Tehran. Iran, 147p.
- Bolan N.S., Robson A.D., and Barrow N.J. 1987. Effect of VAM on the availability of iron phosphates to plants. *Plant Soil*, 99: 401-410.
- Bouyoucos C.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. *Agronomy Journal*, 54: 464-465.
- Bradl H.B. 2004. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. *Journal of Colloid and Interface Science*, 277: 1-18.
- Chan K.Y., Van Zwieten L., Meszaros I., Downie A., and Joseph S. 2007. Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment. *Soil Research*, 45: 629-634.
- Cheng C.H., Lehmann J., Thies J.E., and Burton, S.D. 2008. Stability of black carbon in soils across a climatic gradient. *Journal of Geophysical Research*, 113: 1-10.
- Cottenie, A. 1980. Soil and Plant Testing and Analysis as a Basis of Fertilizer Recommendations (4th Ed.). FAO Soils Bulletin. 127p.
- Divband Hafshejani L., Naseri A.A., Hooshmand A., Abbasi F., and Soltani Mohammadi A. 2016. Effect of Sugarcane Bagasse Biochar Application on Chemical Properties a Sandy Loam Soil. *Irrigation science and engineering*, 40: 63-72. (In Persian)
- Douds J.R., and Millner P.D. 1999. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 77-93.
- Dutt S., Sharma S.D., and Kumar P. 2013. Arbuscular mycorrhizas and Zn fertilization modify growth and physiological behavior of apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Scientia Horticulturae*, 155: 97-104.
- Ehyaei M., and Behbahanizade A.A. 1991. Methods of Soil Chemical Analysis. Soil and Water Research Institute. Tehran. Iran. 983p.

- Elzobair K.A., Stromberger M.E., Ippolito J.A., and Lentz R.D. 2016. Contrasting effects of biochar versus manure on soil microbial communities and enzyme activities in an Aridisol. *Chemosphere*, 142: 145-152.
- Enrique G., Olmo M., Poorter H., Ubers J.L., and Villar R. 2016. Leaf mass per area (LMA) and its relationship with leaf structure and anatomy in 34 Mediterranean woody species along a water availability gradient. *Plos one*, 2: 1-18.
- Farrell M., Kuhn T.K., Macdonald L.M., Maddern T.M., Murphy D.V., Hall P.A., Singh B.P., Baumann K., Krull E.S., and Baldock J.A. 2013. Microbial utilisation of biochar derived carbon. *Science of the Total Environment*, 465: 288–297.
- Forster P., Ramaswamy V., Artaxo P., Bernsten T., Betts R., Fahey D.W., Haywood J., Lean J., Lowe D.C., and Myhre G. 2007. Changes in atmospheric constituents and in radioactive forcing. In: Solomon S., Qin D., Manning M., Chen Z., Marquis M., Averyt K. B., Tignor M., and Miller H. L. (Eds.), *Climate Change*. Cambridge University Press. pp. 129-234.
- Gaskin J.W., Speir R.A., Harris K., Das K.C., Lee R.D., Morris L.A., and Fisher D.S. 2010. Effect of peanut hull and pine chip biochar on soil nutrients, corn nutrient status, and yield. *Agronomy Journal*, 102: 623–633.
- Glaser B., and Birk J.J. 2012. State of the scientific knowledge on properties and genesis of Anthropogenic Dark Earths in Central Amazonia (terra preta de indio). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 82: 39-51.
- Guarda G., Padovan S., and Delogu G. 2004. Grain yield, nitrogen-use efficiency and baking quality of old and modern Italian bread-wheat cultivars grown at different nitrogen levels. *European Journal of Agronomy*, 21: 181–192.
- Gul B., Abideen Z., Ansari R., and Khan M.A. 2013. Halophytic biofuels revisited. *Biofuels*, 4: 575-577.
- Gupta P. 1999. *Soil, plant, water and Fertilizer Analysis* (2nd Ed.). AgroBotanica, Bikaner, 438p.
- Haider G., Koyro H., Azam F., Steffens D., Müller C., and Kammann C. 2015. Biochar but not humic acid product amendment affected maize yields via improving plant-soil moisture relations. *Plant and Soil*, 395: 141–157.
- Haluschak P. 2006. *Laboratory Methods of Soil Analysis*. Canada-Manitoba soil survey, 133p.
- He Z., He C., Zhang Z., Zou Z., and Wang H. 2007. Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 59: 128–33.
- Johnson A.E., and Goulding K.W. 1990. The use of plant and soil analysis to predict the potassium supplying capacity of soil. In: *Development of K-Fertilizer Recommendation*, 22nd Colloquium of international potassium institute, pp. 153-180
- Karami N., Clemente R., Jimenez E.M., Lepp N.W., and Beesley L. 2011. Efficiency of green waste compost and biochar soil amendments for reducing lead and copper mobility and uptake to ryegrass. *Journal of Hazardous Materials*, 191: 41–48.
- Koirala U., and Jha S. 2013. Macrophytes of the lowland wetlands in Morang district. *Nepalese Journal of Biosciences*, 1: 131-139.
- Kothari S.K., Marschner H., and Romheld V. 1991. Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil. *Plant and Soil*, 131: 177–185.
- Lehmann J., and Joseph S. 2009. *Biochar for environmental management: Science and Technology* (3rd Ed.). Earthscan. 438p.
- Lehmann J., Skjemstad J.O., Sohi S., Carter J., Barson M., Falloon P., Coleman K., Woodbury P., and Krull E. 2008. Australian climate-carbon cycle feedback reduced by soil black carbon. *Nature Geoscience*, 1: 832–835.
- Lindsay W.L., and Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42: 421–428.
- Masto R.E., Kumar S., Rout T.K., Sarkar P., George J., and Ram L.C. 2013. Biochar from water hyacinth (*Eichornia crassipes*) and its impact on soil biological activity. *Catena*, 111: 64–71.

- Miransari M., Bahrami H.A., Rejali F., Malakouti M.J., and Torabi H. 2007. Using arbuscular mycorrhiza to reduce the stressful effects of soil compaction on corn (*Zea mays* L.) growth. *Soil Biology and Biochemistry*, 39: 2014-2026.
- Mohammad M.J., Malkawi H.I., and Shibli R. 2003. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus fertilization on growth and nutrient uptake of barley grown on soils with different levels of salts. *Journal of Plant Nutrition*, 26: 125-137.
- Mojtabavi K., and Darzi M.T. 2018. Effects of vermicompost and nitroxin application on flower yield, yield components and essential oil quality of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 33: 1034-1036. (In Persian)
- Murphy J., and Riley J.P. 1962. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*. 27: 31-36.
- Nadeem S.M., Ahmad M., Zahir Z.A., Javaid A., and Ashraf M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances*, 32: 429-448.
- Najafi ghiri M. 2015. Effect of different biochars on some soil characteristics and availability of some nutrient elements in a calcareous soil. *Journal of soil research*, 29: 351-358. (In Persian)
- Namgay T., Singh B., and Singh B. P. 2010. Influence of biochar application to soil on the availability of As, Cd, Cu, Pb, and Zn to maize (*Zea mays*). *Australian Journal of Soil Research*, 48: 638-647.
- Nguyen B.T., and Marschner P. 2005. Effect of drying and rewetting on phosphorus transformations in red brown soils with different soil organic matter content. *Soil Biology and Biochemistry*. 37: 1573-1576.
- Nigussie A., Endalkachew K., Mastawesha M., and Gebermedihin A. 2012. Effect of biochar application on soil properties and nutrient uptake of Lettuces (*Lactuca sativa*) grown in chromium polluted soils. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 12: 369-376.
- Novak J.M., Busscher W.J., Laird D.L., Ahmedna M., Watts D.W., and Niando M.A.S. 2009. Impact of biochar amendment on fertility of a southeastern coastal plain soil. *Soil Science*, 174: 105-112.
- Rhodas L. H., and Gerdemann J. W. 1980. Nutrient translocation in VAM. In: C. B. Cooks, P. W. Pappas and E. D. Rudolph (Eds), *Cellular Interactions in Symbiosis and Parasitism* Ohio State University Press. pp.173-234.
- Richards L.A. 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. Agriculture Handbook 60, USDA, Washington DC. 154p.
- Rouphael Y., Franken P., Schneider C., Schwarz D., Giovannetti M., Agnolucci M., De Pascale S., Bonini P., and Colla G. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 196: 91-108
- Schmidt H.P., Kammann C., Niggli C., Evangelou M.W., Mackie K.A., and Abiven S. 2014. Biochar and biochar-compost as soil amendments to a vineyard soil: Influences on plant growth, nutrient uptake, plant health and grape quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 191: 117-123.
- Sharifi M., Mohtashamian M., Riyahi H., Aghaiy A., and Alavii S.M. 2010. The Effects of the Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal (VAM) Fungus *Glomus etunicatum* on growth and some physiological parameters of Basil. *Journal of Medicinal Plants*, 38: 85-94. (In Persian)
- Shirmardi M., Savaghebi G.R., Khavazi K., Akbarzadeh A., Farahbakhsh M., Rejali F., Sadat A. 2010. Effect of microbial inoculants on uptake of nutrient elements in two cultivars of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in saline soils. *Notulae Scientia Biologicae*, 2: 57-66.
- Sinclair K., Slavich P., van Zwieten L., and Downie A. 2008. Productivity and nutrient availability on a Ferrosol: biochar, lime and fertiliser. In: *Proceedings of 14th Australian Agronomy Conference*, 21-25 Sep., Adelaide, South Australia, pp. 119-122.
- Singh B., Singh B.P., and Cowie A.L. 2010. Characterisation and evaluation of biochars for their application as a soil amendment. *Soil Research*, 48: 516-525.
- Smith S.E., and Gianinazzi P. 1988. Physiological interaction between symbionts in VA-mycorrhizal plants. *Annual Review of Plant Biology*, 39: 221-224.

- Song W., and Guo, M. 2012. Quality variations of poultry litter biochar generated at different pyrolysis temperatures. *Journal of analytical and Applied Pyrolysis*, 94: 138-145.
- Stark C., Condron L.M., Stewart A., Di H.J., and Ocallaghan M. 2007. Influence of organic and mineral amendments on microbial soil properties and processes. *Applied Soil Ecology*, 35: 79-93.
- Tate R.L. 2000. *Soil Microbiology*. John Wiley and Sons. New York, USA. 508p.
- Vaccari F., Baronti S., Lugato E., Genesio L., Castaldi S., Fornasier F., and Miglietta F. 2011. Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. *European Journal of Agronomy*, 34: 231-238.
- Van Zwieten L., Kimber S., Morris S., Chan K.Y., Downie A., Rust J., Joseph S., and Cowie A. 2010. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant and Soil*, 327: 235-246.
- Vessey J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255: 571-586.
- Walkley A., and Black I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37: 29-38.
- Watanabe F.S., and Olsen S.R. 1965. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO₃ extracts from soil. *Soil Science Society of America, Proceedings*, 29: 677-678.
- Winsley P. 2007. Biochar and bioenergy production for climate change mitigation. *New Zealand Science Review*, 64: 5-10.
- Zainul A., Hans-Werner K., Bernhard H., Bilquees G., and Ajmal K.M. 2017. Impact of a Biochar or a Compost-Biochar Mixture on Water relation, Nutrient uptake and Photosynthesis of *Phragmites karka*. *Pedosphere*, from [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60362-X](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60362-X).
- Zhang L., Sun X.Y., Tian Y., and Gong X.Q. 2013. Effects of brown sugar and calcium superphosphate on the secondary fermentation of green waste. *Bioresource Technology*, 131: 68-75.

Effect of Biochar and Mycorrhizal Fungi on the Growth Characteristics and Nutrition of Calendula (*Calendula Officinalis* L.)

Ehsan Karimi¹, Mostafa Shirmardi^{2*}, Maryam Dehestani Ardakani³, Mojtaba Karimi⁴, Jalal Gholamnezhad³

(Received: December 2018 Accepted: Jun 2019)

Abstract

Application of Mycorrhizal Fungi (MF) and biochar can increase water and nutrient uptake in the rooting zone and thus improve crop production. A factorial experiment with completely randomized design with three replications was conducted to investigate the effects of biochar (0, 2 and 4% w/w) and MF (non-inoculation and inoculation with MF) on the morphophysiological characteristics and concentration of elements in calendula (*Calendula officinalis* L.) in greenhouse condition. The biochar was passed through a sieve of 2 mm and mixed with soil. The application of mycorrhizal fungi was done by direct contact with the root of plant. After six months, the morphophysiological characteristics and the concentration of some macro and micro elements in shoot were measured. The results showed that with simultaneous application of 4% biochar and mycorrhizal fungi increased chlorophyll, flower diameter, plant height, leaf area, stem diameter, plant dry weight and concentration of P, K, Ca and Fe compared to control, significantly. Zn concentration increased in 4% biochar treatment and simultaneous use of 4% biochar and mycorrhizal fungi compared to the control significantly (13.7 and 19.5% respectively). The application of 4% biochar caused a significant increase in Mn concentration compared to the control (91.3 against 86.6 mg.kg⁻¹), while the application of 2% biochar has not a significant difference with control and 4% biochar treatments. The results of the effect of adding biochar to soil after plant growth period showed that available K, Ca, Mg and Mn increased with addition of 4% biochar by 22.2, 18.2, 43.6 and 15.2%, respectively. However, 2% biochar treatment had no significant effect on these soil parameters compared to control. It seems that application of these materials can improve availability of nutrients and plant growth parameters by improving plant growth conditions and affect crop production.

Keywords: Biochar, Biofertilizer, Organic amendments, Plant nutrition, Macro elements

Karimi E., Shirmardi M., Dehestani Ardakani M., Karimi M., Gholamnezhad J. 2020. Effect of biochar and mycorrhizal fungi on the growth characteristics and nutrition of calendula (*Calendula Officinalis* L.). *Applied Soil Research*. 8(2):112-128.

1. Former MSc Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Ardakan University

2. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Ardakan University (Corresponding Author)

3. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Ardakan University

4. Assistant Professor, Department of Agronomy, Agriculture Faculty, Shahrekord University

* Corresponding Author Email: shirmardi@ardakan.ac.ir