ارتباط شکل‌های شیمیایی مس با پاسخ‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) در خاک‌های آهکی تیمارشده با لجن فاضلاب

حمیدرضا متقیان[1*]، علیرضا حسین‌پور، جهانگرد محمدی و فایز رئیسی

دانشجوی دوره دکتری شیمی و حاصلخیزی خاک، دانشگاه شهرکرد؛ hrm_61@yahoo.com

استاد گروه علوم خاک، دانشگاه شهرکرد؛ hosseinpur-a@agr.sku.ac.ir

دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه شهرکرد؛ Jahan.mohammadi@ymail.com

استاد گروه علوم خاک، دانشگاه شهرکرد؛ f_raiesi@yahoo.com

چکیده

مطالعه شکل‌های مس در خاک امکان تعیین شکل یا شکل‌های قابل استفاده و متحرک این عنصر را می‌دهد. هدف این پژوهش بررسی شکل‌های قابل استفاده مس در خاک‌های آهکی تیمارشده و تیمارنشده با لجن فاضلاب می‌باشد. برای تیمار خاک‌ها 10 گرم لجن فاضلاب به هر کیلوگرم خاک اضافه شد. پس از خواباندن خاک‌های تیمارشده و تیمارنشده با لجن فاضلاب به مدت یک ماه، شکل‌های تبادلی، متصل به کربنات‌ها، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، متصل به ماده‌آلی و تتمه عنصر مس تعیین شد. گیاه گندم در این خاک‌ها کشت و پس از 8 هفته گیاهان برداشت و عملکرد، غلظت و جذب مس در آن تعیین شدند. سپس بر اساس ضریب همبستگی بین پاسخ‌های گیاه و شکل‌های مس، شکل‌های قابل استفاده گندم تعیین شدند. نتایج نشان داد که کاربرد لجن فاضلاب سبب افزایش همه شکل‌های مس و پاسخ‌های گندم شد. نتایج کشت گلدانی نشان داد که در خاک‌های شاهد، بین شاخص غلظت مس در گندم و شکل‌های تبادلی ($r=0/66^{*}$)، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز ($r=0/75^{*}$) و شکل تتمه ($r=0/75^{*}$) همبستگی معنی‌داری وجود داشت. به علاوه در خاک‌ها تیمارنشده جذب مس با شکل تتمه همبستگی معنی‌داری ($r=0/64^{*}$) داشت. همچنین نتایج نشان داد که در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب غلظت مس در گندم با شکل‌های تبادلی ($r=0/89^{**}$) و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز ($r=0/65^{*}$) همبستگی معنی‌داری داشت. بنابراین در خاک‌های شاهد شکل‌های تبادلی، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و تتمه و در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب شکل‌های تبادلی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز می‌توانند به‌عنوان شکل‌های دارای قابلیت استفاده گیاه گندم به کار روند.

واژه‌های کلیدی: مس، لجن فاضلاب، گندم

مقدمه

کاربرد لجن فاضلاب به‌صورت منطقی در تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه اهمیت دارد (کرمی[2] و همکاران، 2009). تعیین مقدار کل عناصر کم‌نیاز از جمله مس در لجن فاضلاب اطلاعاتی درباره مقدار قابل استفاده این عنصر در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب در اختیار قرار نمی‌دهد (آمیر[3] و همکاران، 2005). هر عنصر بسته به اینکه با ترکیبات مختلف خاک مانند کربنات‌ها، اکسیدهای آهن، آلومینیوم و منگنز و ماده‌آلی پیوند داشته باشد، می‌تواند شکل‌های مختلفی را

---

[1] نویسنده مسئول، آدرس: شهرکرد، کیلومتر 2 جاده سامان، دانشگاه شهرکرد، دانشکده کشاورزی، گروه خاک، صندوق پستی 115

* دریافت: دی 1390 و پذیرش: شهریور 1391

[2] Karami

[3] Amir

تشکیل دهد (کاباتا-پندیاس[1]، 2001). به‌علاوه قابلیت استفاده شکل‌های مختلف عناصر برای گیاه متفاوت است و اغلب ارتباط زیادی با نحوه توزیع آن عنصر در اجزاء مختلف خاک از قبیل ماده‌آلی، کربنات‌ها، اکسیدها و کانی‌ها دارد (هان[2] و همکاران، 1995؛ وانگ[3] و همکاران، 2001؛آدامو[4] و همکاران، 2003). بنابراین جداسازی شکل‌های عناصر برای برآورد مقدار قابل استفاده آنها حائز اهمیت است (صفاری[5] و همکاران، 2009).

علاوه بر روش‌های یک مرحله‌ای، روش‌های عصاره‌گیری دنباله‌ای نیز در ارزیابی قابلیت استفاده عناصر کم‌نیاز از جمله مس مورد استفاده قرار گرفته‌اند (سینگ[6] و همکاران 1987؛ آگراوال[7] و گوپتا[8]، 1990؛ فوئنتز[9] و همکاران، 2004؛ فنگ[10] و همکاران، 2005؛ گوپتا[11] و سینا[12]، 2007). یکی از اولین روش‌های عصاره‌گیری متوالی به وسیله تسیر[13] و همکاران (1979) ارائه و به صورت گسترده‌ای در تعیین شکل‌های عناصر سنگین به شکل‌های تبادلی، متصل به کربنات‌ها، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، متصل به ماده‌آلی و تتمه در خاک‌ها به کاربرده می‌شود (آلوارز[14] و همکاران، 2006).

در تحقیقات زیادی قابلیت استفاده شکل‌های مختلف مس برای گیاهان بررسی شده است (لیانگ[15] و همکاران 1991؛ باکرسی اوقلو[16] و همکاران، 2011؛ سیمس[17]، 1986). نوع گیاه و خاک از فاکتورهای مؤثر بر قابلیت استفاده مس هستند، بر همین اساس شکل یا شکل‌های مس که قابلیت استفاده بیشتری برای گیاهان دارند به‌خصوص در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب مشخص نشده است. بنابراین بررسی رابطه بین شکل‌های مس در خاک‌ها و پاسخ‌های گیاهان مختلف ضروری است (آلوارز و همکاران، 2006). در برخی از تحقیقات همبستگی معنی‌داری بین مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز با پاسخ‌های گیاه گزارش شده است (سیمس، 1986؛ لیانگ و همکاران، 1991؛ باکرسی اوقلو و همکاران، 2011). باکرسی اوقلو و همکاران (2011) بین غلظت مس در دانه‌های گندم با مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری گزارش کردند. لیانگ و همکاران (1991) به بررسی شکل‌بندی مس در خاک‌های تحت کشت لوبیا پرداختند. نتایج آنان نشان داد که جذب و غلظت مس در لوبیا با مقدار مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و مقدار کل مس همبستگی معنی‌داری داشتند. نتایج آنها نشان داد که مس متصل به ماده‌آلی با غلظت مس در لوبیا همبستگی معنی‌داری نداشت. سیمس (1986) مشاهده کرد که شاخص جذب کل مس با شکل متصل به ماده‌آلی، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و مقدار کل مس همبستگی معنی‌داری داشت. نتایج آنها نشان داد که جذب با مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز در بین شکل‌های این عنصر بیشترین ضریب همبستگی را داشت.

علیرغم اهمیت شکل یا شکل‌های عنصر مس در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب، در رابطه با تعیین قابلیت استفاده شکل‌های معدنی مس در این خاک‌ها مطالعات زیادی انجام نشده است. سیمز[18] و کلاین[19] (1991) به بررسی رابطه بین غلظت مس در گیاه گندم با شکل‌های مختلف این عنصر در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب با استفاده از رگرسیون چندگانه پرداختند. نتایج آنها نشان داد که شکل‌های تبادلی، متصل به ماده‌آلی، متصل به کربنات‌ها و متصل به اکسیدها توانایی برآورد غلظت مس در گیاه گندم خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب را داشتند (R^2= 0/57**).

مطالعه ارتباط شکل‌های مس و پاسخ‌های گیاه گندم در خاک‌های آهکی تیمارشده و تیمارنشده با لجن فاضلاب استان چهارمحال و بختیاری انجام نشده است. بنابراین این تحقیق با هدف بررسی رابطه بین شکل‌های مس و پاسخ‌های گیاه گندم در خاک‌های خاک‌های آهکی تیمارشده و تیمارنشده با لجن فاضلاب انجام شد.

مواد و روشها

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها

این تحقیق با استفاده از 10 نمونه خاک جمع‌آوری شده از لایه شخم (cm 30–0) که روی قابل استفاده، رس و کربنات کلسیم معادل در آنها تغییرات زیادی داشت، انجام شد. در این تحقیق بافت خاک

1. Kabata-Pendias
2. Han
3. Wang
4. Adamo
5. Saffari
6. Sing
7. Agrawal
8. Gupta
9. Fuentes
10. Feng
11. Gupta
12. Sinha
13. Tessier
14. Alvarez
15. Liang
16. Bakircioglu
17. Sims,
18. Sims
19. Sklin

به‌روش هیدرومتر (گی[1] و بودر[2]، 1986)، pH خاک در سوسپانسون دو به یک آب به خاک (توماس[3]، 1996)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره دو به یک آب به خاک (رودز[4]، 1996)، کربنات کلسیم معادل به‌روش تیتراسیون (لوپرت[5] و سوآرز[6]، 1996)، گنجایش تبادل کاتیونی به‌روش استات سدیم در pH برابر با 7 (رودز، 1982)، ماده‌آلی به‌روش اکسیداسیون مرطوب (نلسون[7] و سامرس[8]، 1996) تعیین شدند. مقادیر قابل استفاده و کل مس به‌ترتیب با استفاده از DTPA-TEA (لیندزی[9] و نورول[10]، 1978) و هضم با اسید نیتریک 4 مولار (اسپوزیتو[11] و همکاران، 1982) تعیین شدند.

لجن فاضلاب

لجن فاضلاب شهری از تصفیه‌خانه فاضلاب شهرکرد تهیه و پس از خشک کردن از الک 1 میلی‌متری عبور داده شد. pH لجن فاضلاب در سوسپانسیون پنج به یک آب به لجن فاضلاب، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره پنج به یک آب به لجن فاضلاب و مقادیر کل و قابل استفاده مس به‌ترتیب با استفاده از هضم با اسید نیتریک 4 مولار (اسپوزیتو و همکاران، 1982) و DTPA-TEA (لیندزی و نورول، 1978) تعیین شدند. همچنین مقدار کل عناصر کادمیم، نیکل، سرب و روی با استفاده از هضم با اسید نیتریک 4 مولار عصاره‌گیری شد.

کشت گلخانه‌ای

برای تیمار خاک‌ها معادل 1٪ (وزنی- وزنی) لجن فاضلاب اضافه و رطوبت خاک‌های تیمارشده و خاک‌های تیمارنشده به حدود ظرفیت مزرعه‌ای رسانده و به مدت 1 ماه خوابانده شدند. در طول دوره انکوباسیون رطوبت خاک‌ها در حدود ظرفیت مزرعه‌ای ثابت شد. در پایان دوره انکوباسیون و قبل از کشت، شکل‌های مختلف مس با روش تسیر و همکاران (1979) تغییریافته در تعیین شکل تتمه در خاک‌های تیمارشده و تیمارنشده با لجن فاضلاب عصاره‌گیری شدند (جدول 1). این پژوهش قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. در هر گلدان‌ها 4/5 کیلوگرم خاک منتقل شد. به هر گلدان در خاک‌های شاهد 100 میلی‌گرم در کیلوگرم نیتروژن از منبع اوره به‌صورت تقسیط در سه مرحله، 100 میلی‌گرم پتاسیم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات پتاسیم و 5 میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک از منبع سکوسترین 138 اضافه شد. همچنین مقدار کود فسفره پس از تعیین فسفر قابل استفاده خاک‌ها با روش اولسن به هر گلدان اضافه شد. سپس 3 بذر گندم رقم بک‌گراس روشن در هر گلدان کشت شد. در طول مدت رشد مراقبت‌های لازم انجام و سعی شد رطوبت خاک‌ها در حد ظرفیت مزرعه‌ای ثابت بماند. گیاهان 8 هفته پس از جوانه‌زدن برداشت شده، بخش‌های هوایی با آب مقطر شسته و به‌مدت 48 ساعت در دمای 70 درجه سلسیوس در آون تهویه‌دار خشک و سپس وزن خشک اندام هوایی تعیین شد. غلظت مس در اندام‌های هوایی با روش خاکستر خشک عصاره‌گیری (کمپل[12] و بلانک[13]، 1998) و با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل جی بی سی، 932) تعیین و سپس مس جذب‌شده با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

عملکرد خشک (کیلوگرم در گلدان) × غلظت مس (میلی‌گرم در کیلوگرم) = مس جذب‌شده (میلی‌گرم در گلدان)

مقایسه میانگین بین ویژگی‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون t-test (جفت نشده) استفاده شد. در پایان ضرایب همبستگی بین پاسخ‌های گیاه گندم (عملکرد خشک، غلظت و جذب مس) با شکل‌های مس در خاک‌های تیمارشده و تیمارنشده با لجن فاضلاب با استفاده از نرم‌افزار SPSS 17.0 برای تعیین شکل یا شکل‌های مس که بیشترین قابلیت استفاده برای گندم را دارند تعیین شدند.

نتایج و بحث

جدول 2 برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج این جدول، دامنه تغییرات رس 25 تا 55 (متوسط 44٪) و سیلت دارای دامنه 33 تا 55 (متوسط 43٪) بود. تغییرات pH 7/5 تا 8/1 و قابلیت هدایت الکتریکی 0/12 تا 0/25 دسی‌زیمنس بر متر بود. دامنه تغییرات کربن آلی و کربنات کلسیم معادل خاک‌ها به ترتیب 0/30 تا 1/19 و 11/3 تا 41/0 درصد و دامنه تغییرات گنجایش تبادل کاتیونی خاک‌ها 11/5 تا 22/5 سانتی‌مول بار در کیلوگرم بود. مقدار قابل استفاده مس در دامنه 1/5 تا 3/25 میلی‌گرم در کیلوگرم و مقدار کل مس خاک‌های مورد مطالعه در دامنه 15 تا 25 میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

1. Gee
2. Bauder
3. Thomas
4. Rhoades
5. Loeppert
6. Suarez
7. Nelson
8. Sommers
9. Lindsay
10. Norvell
11. Sposito
12. Campbell
13. Plank

لجن فاضلاب مورد استفاده دارای pH برابر با 7/5 و قابلیت هدایت الکتریکی زیاد (2/25 دسی زیمنس بر متر) بود. مقدار قابل استفاده و کل مس در لجن فاضلاب به ترتیب 41 و 78 میلی‌گرم در کیلوگرم و مقادیر کل کادمیم، نیکل، سرب و روی به‌ترتیب 73، 78، 583 و 1321 میلی‌گرم در کیلوگرم بود. مقایسه مقادیر عناصر سنگین موجود در لجن فاضلاب مورد استفاده با استانداردهای آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (USEPA) نشان داد که غلظت کادمیم و سرب در لجن فاضلاب بیشتر از مقدار استاندارد این عناصر (حدود استاندارد به ترتیب 39 و300 میلی‌گرم در کیلوگرم) بود (USEPA، 1993).

مقادیر شکل‌های مختلف مس در خاک‌های شاهد و تیمارشده با لجن فاضلاب در جدول 3 نشان داده شده است. همان‌طور که این جدول نشان می‌دهد شکل تبادلی با دامنه 0/17 تا 0/48 و میانگین 0/37 میلی‌گرم در کیلوگرم (1/8٪ از کل) حداقل مقدار را در بین شکل‌های مس داشت. بعد از شکل تبادلی، مس متصل به ماده‌آلی با دامنه 0/29 تا 1/13 و میانگین 0/54 میلی‌گرم در کیلوگرم (2/7٪ از کل) و مس متصل به کربنات‌ها با دامنه 0/33 تا 0/85 و میانگین 0/61 میلی‌گرم در کیلوگرم (3/1٪ از کل) قرار داشتند. مقدار مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز با دامنه 1/75 تا 3/20 و میانگین 2/12 میلی‌گرم در کیلوگرم (10/6٪ از کل) و شکل تتمه با دامنه 12/1 تا 20/7 و میانگین 16/4 میلی‌گرم در کیلوگرم (81/8٪ از کل) حداکثر مقدار مس را در بین شکل‌های این عنصر در خاک‌های تیمارنشده داشتند.

در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب، در بین شکل‌های مس، شکل تبادلی با میانگین 0/69 میلی‌گرم در کیلوگرم حداقل (3/1٪ از کل مس) مقدار را داشت. بعد از مس تبادلی، شکل‌های متصل به ماده‌آلی (3/1٪ از کل مس) و متصل به کربنات‌ها (3/4٪ از کل مس) با میانگین 0/75 و 0/68 میلی‌گرم در کیلوگرم قرار داشتند. در بین شکل‌های مس در خاک‌های تیمارشده مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز با میانگین 2/48 میلی‌گرم در کیلوگرم (11/3٪ از کل مس) و تتمه با میانگین 17/4 میلی‌گرم در کیلوگرم (79/1٪ از کل مس) حداکثر مقدار را داشتند. بر اساس نتایج، تفاوت شکل‌های مس در خاک‌های مختلف نشان‌دهنده تفاوت خاک‌ها و همچنین واکنش‌پذیری متفاوت مس در خاک‌های مختلف مورد مطالعه است.

بر اساس نتایج به‌دست آمده، مس قرار گرفته در ساختار سیلیکات‌ها که به‌عنوان شکل تتمه شناخته می‌شود (لیانگ و همکاران، 1991) بیشترین شکل مس در خاک‌های تیمارشده و تیمارنشده با لجن فاضلاب بود. نتایج مشابهی به وسیله لیانگ و همکاران (1991) و میلر[1] و همکاران (1986) گزارش شده است. باکرسی‌اوقلو و همکاران (2011) گزارش کردند که شکل تتمه و مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز بیشترین مقدار بود.

در این پژوهش مقدار مس متصل به ماده‌آلی از مقدار گزارش شده در برخی مطالعات کمتر است. لیانگ و همکاران (1991) علت کمتر بودن مقدار مس متصل به ماده‌آلی را نسبت به سایر تحقیقات انجام شده، در تفاوت روش عصاره‌گیری گزارش کرده‌اند. آنها گزارش کردند که عصاره‌گیر شکل متصل به ماده‌آلی می‌تواند بخشی از مس متصل به اکسیدهای منگنز را نیز عصاره‌گیری کند و بنابراین مقدار مس متصل به ماده‌آلی را بیشتر از مقدار واقعی برآورد می‌کند. به‌علاوه در روش عصاره‌گیری تسیر و همکاران (1979) مرحله عصاره‌گیری مس متصل به ماده‌آلی بعد از عصاره‌گیری بخش متصل به اکسیدهای آهن و منگنز قرار دارد، بنابراین ممکن است که محلول هیدورکسیل آمین مورد استفاده در عصاره‌گیری مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز توانایی عصارگیری بخشی از مس متصل به ماده‌آلی را نیز داشته باشد. همچنین، ساکال[2] و همکاران (1988) گزارش کردند که در خاک‌های با ماده‌آلی زیاد همبستگی منفی بین مقدار قابل استفاده مس و ماده‌آلی خاک مشاهده می‌شود. بنابراین در خاک‌های با ماده‌آلی زیاد پیوند مس با ماده‌آلی منجر به کاهش قابلیت استفاده این عنصر می‌شود. در خاک‌های مورد مطالعه در این پژوهش، مقدار ماده‌آلی نسبتاً کم است و همچنین استونسون[3] و فیتچ[4] (1981) گزارش کردند که مس علاوه بر ماده‌آلی، پیوند بسیار قوی با اکسیدهای آهن و آلومینیوم ایجاد می‌کند. بنابراین در خاک‌های مورد مطالعه مس با توجه به مقدار ماده‌آلی نسبتاً کم، با اکسیدهای آهن پیوند داده و بنابراین مقدار مس متصل به ماده‌آلی نسبتاً کمی عصاره‌گیری شد.

همان‌طور که در جدول 3 مشاهده می‌شود بر اثر افزودن لجن فاضلاب به خاک‌های مورد مطالعه، مقدار شکل‌های مس افزایش معنی‌داری یافتند. میانگین شکل‌های مس در خاک‌های شاهد با میانگین شکل‌های این عنصر در خاک تیمارشده با لجن فاضلاب تفاوت معنی‌داری (به جز مس متصل به ماده‌آلی در سطح احتمال

1. Miller
2. Sakal
3. Stevenson
4. Fitch

5٪) در سطح احتمال 1٪ داشتند. بر اثر افزودن لجن فاضلاب به خاک‌ها، میانگین شکل تبادلی 1/89، شکل متصل به کربنات‌ها 1/22، شکل متصل به اکسیدهای آهن و منگنز 1/17، شکل متصل به ماده‌آلی 1/26 و شکل تتمه 1/06 برابر افزایش یافت. ویلیامز[1] و همکاران (1980) و مک‌گراف[2] و همکاران (2000) بیان کردند که لجن فاضلاب دارای مقدار زیادتری عناصر کم‌نیاز نسبت به خاک است و بنابراین افزودن لجن فاضلاب به خاک باعث افزایش غلظت این عناصر در خاک می‌شود. بر اساس نتایج این پژوهش در طی مدت انکوباسیون، مس آزادشده از لجن فاضلاب در فازهای تبادلی، متصل به ماده‌آلی، متصل به کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز قرار گرفته بود. برازاوسکین[3] و همکاران (2008) مشاهده کردند که با افزودن لجن فاضلاب به خاک‌ها، مقدار مس تبادلی افزایش یافته و در طی انکوباسیون این عنصر از شکل‌های تبادلی، متصل به کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز به شکل‌های متصل به ماده‌آلی و تتمه انتقال می‌یابد.

نتایج بررسی قابلیت هدایت الکتریکی خاک‌ها پس از کشت نشان داد که قابلیت هدایت الکتریکی خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب و خاک‌های شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند (نتایج نشان داده نشده است). به عبارت دیگر به دلیل مصرف کم لجن فاضلاب و یا رسوب املاح محلول موجود در لجن به صورت املاح با حلالیت کمتر، علیرغم بالابودن قابلیت هدایت الکتریکی لجن فاضلاب کاربرد آن تأثیری بر شورکردن خاک‌ها نداشته است.

جدول 4 پاسخ‌های گیاه گندم را در خاک‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. همان‌طور که این جدول نشان می‌دهد غلظت مس و عملکرد گیاه در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب (به غیر از غلظت مس در خاک شماره 10) افزایش معنی‌داری در سطح اطمینان 1٪ داشتند. مرینگتون[4] و همکاران (1997) گزارش کردند که با افزایش مصرف لجن فاضلاب در خاک‌ها، غلظت مس در بخش‌های هوایی گیاه گندم افزایش می‌یابد. موررا[5] و همکاران (2003) قابلیت استفاده مس برای گیاه آفتابگردان در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب را مطالعه کردند. نتایج آنان نشان داد که با افزایش مصرف لجن فاضلاب جذب و عملکرد گیاه آفتابگردان افزایش یافت.

جدول 5 ضرایب همبستگی بین مقادیر شکل‌های مختلف مس در خاک‌های شاهد و تیمارشده با لجن فاضلاب و پاسخ‌های گیاه گندم را نشان می‌دهد. همان‌طور که نتایج این جدول نشان می‌دهد در خاک‌های شاهد، شاخص غلظت مس در گندم با مس تبادلی و مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری داشت. ضرایب همبستگی غلظت مس در گندم با مس تبادلی و مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز به‌ترتیب 0/66 و 0/75 بود. بین شاخص عملکرد و شکل‌های مس همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین جذب کل مس تنها با شکل تتمه در بین شکل‌های مختلف مس همبستگی معنی‌داری (r=0/64) داشت. بر اساس نتایج این جدول، غلظت مس در گندم با مجموع شکل‌های تبادلی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و با مجموع شکل‌های تبادلی، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و تتمه همبستگی معنی‌داری (ضرایب همبستگی به‌ترتیب 0/69 و 0/75) داشت.

بر اساس نتایج جدول 5 در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب، بین غلظت مس در گندم با مس تبادلی همبستگی معنی‌داری (r=0/89) وجود داشت. همچنین شاخص غلظت با مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری (r=0/65) داشت. در این خاک‌ها غلظت مس در گندم با مجموع شکل‌های تبادلی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری (r=0/72) داشت. در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب بین پاسخ‌های عملکرد و جذب با هیچ یک از شکل‌های مس همبستگی معنی‌داری بدست نیامد.

مطالعه شکل‌های مس در خاک امکان تعیین شکل یا شکل‌های قابل استفاده و متحرک این عنصر را می‌دهد (توکالی‌اوقلو[6] و همکاران، 2003). در تحقیقات انجام شده شده شکل‌های مختلفی به‌عنوان شکل یا شکل‌های قابل استفاده گیاه گزارش شده‌اند. درحالی‌که در برخی تحقیقات انجام شده، مقدار کل و تتمه قابل استفاده گیاه نیست، عناصر در محلول خاک و شکل تبادلی قابلیت استفاده زیادی برای گیاه دارند و همچنین شکل‌های متصل به کربنات‌ها، متصل به اکسیدها و متصل به ماده‌آلی نیز می‌توانند قابل استفاده گیاه باشند (هی[7] و همکاران، 2005). در برخی تحقیقات به جز مس تتمه سایر شکل‌های در برآورد مس قابل استفاده گیاه اهمیت دارند،

1. Williams
2. McGrath
3. Brazauskiene
4. Merrington
5. Morera
6. Tokalioglu
7. He

کیان[1] و همکاران (1996) گزارش کردند معادله رگرسیونی شامل مس تبادلی، مس متصل به کربنات‌ها، مس متصل به ماده‌آلی و مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز توانایی برآورد مس قابل استفاده گندم را داشت. در برخی تحقیقات دیگر مقدار کل مس در برآورد مس قابل استفاده گیاه اهمیت دارد، مانند لیانگ و همکاران (1991) که گزارش کردند پاسخ‌های جذب مس و غلظت آن در لوبیا با مقدار مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و مقدار کل مس همبستگی معنی‌داری داشتند. نتایج آنان نشان داد که غلظت مس در لوبیا با مقدار مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و مقدار کل مس همبستگی معنی‌داری (ضرایب همبستگی به‌ترتیب *0/88 و *0/72) داشت و همچنین شاخص جذب مس با مقدار مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و مقدار کل مس همبستگی معنی‌داری (ضرایب همبستگی به‌ترتیب *0/92 و *0/83) داشت. همچنین نتایج آنها نشان داد که مس متصل به ماده‌آلی با غلظت مس در لوبیا همبستگی معنی‌داری نداشت. در برخی تحقیقات شکل‌هایی که معمولاً قابلیت استفاده زیادی برای گیاه دارند، غیر قابل استفاده و شکل‌های با قابلیت استفاده کم، به عنوان شکل قابل استفاده گزارش شده‌اند. باکرسی اوقلو و همکاران (2011) مشاهده کردند که غلظت مس در دانه‌های گندم با مس تبادلی و محلول همبستگی معنی‌داری نداشته و با شکل متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری (*0/336) داشت. در برخی مطالعات مس متصل به ماده‌آلی به‌عنوان شکل قابل استفاده و در پژوهش‌های دیگر به‌عنوان شکل غیر قابل استفاده گزارش شده است. کلمنت[2] و همکاران (2006) گزارش کردند که هوموسی‌شدن ماده‌آلی لجن فاضلاب منجربه افزایش فولیک اسید در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب می‌شود. در این خاک اسید فولیک توانایی پیوند با عنصر مس را داشته و منجر به افزایش قابلیت استفاده مس می‌شود (سادونیکووا[3] و همکاران، 1996). در حالی‌که شکل‌های ماده‌آلی با وزن ملکولی زیاد، مقدار کمی از عناصر پیوندشده را با سرعت کم آزاد می‌کنند (فیلگوارآس[4] و همکاران، 2002). بنابراین اثر لجن فاضلاب بر قابلیت استفاده مس به سرعت تجزیه ماده‌آلی و شکل‌های آن بستگی دارد. روپا[5] و شوکلا[6] (1999) گزارش کردند که مس متصل به ماده‌آلی با غلظت مس در برنج همبستگی معنی‌داری (**0/742) داشت. همچنین نتایج آنها نشان داد که مس محلول و تبادلی با شاخص جذب مس همبستگی معنی‌داری (ضرایب همبستگی به‌ترتیب **0/649 و **0/709) داشت. سیمس (1986) گزارش کرد که مقدار مس جذب‌شده با مقدار مس متصل به ماده‌آلی، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و مقدار کل مس همبستگی معنی‌داری داشت. نتایج آنان نشان داد که جذب کل مس با مقدار مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز بیشترین ضریب همبستگی را داشت. در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب نیز مانند خاک‌های شاهد شکل‌های متفاوتی برای برآورد مس قابل استفاده گزارش شده‌اند. سیمز و کلاین (1991) مشاهد کردند که شکل‌های تبادلی، متصل به ماده‌آلی، متصل به کربنات‌ها و متصل به اکسیدها توانایی برآورد غلظت مس در گیاه گندم خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب را داشتند. در حالی که سو[7] و ونگ[8] (2003) گزارش کردند که غلظت مس در گیاه ذرت همبستگی معنی‌داری با مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز (*r= 0/81) و مقدار کل مس (*r= 0/79) در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب داشت.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد در خاک‌های تیمارشده و تیمارنشده با لجن فاضلاب در بین شکل‌های مس، شکل تبادلی حداقل و شکل تتمه حداکثر مقدار را به‌طور مطلق داشتند. بعد از مس تتمه، شکل متصل به اکسیدهای آهن و منگنز قرار داشت. بر اثر افزودن لجن فاضلاب به خاک‌ها، مقدار شکل‌های مس و پاسخ‌های گیاه افزایش معنی‌داری یافتند. همچنین بر اثر افزودن لجن فاضلاب میانگین مس تبادلی و متصل به ماده‌آلی بیشترین افزایش را یافتند. در خاک‌های تیمارنشده با لجن فاضلاب، غلظت مس در گیاه گندم با مس تبادلی و مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری داشت. در این خاک‌ها شاخص عملکرد با هیچ یک از شکل‌های مس همبستگی معنی‌داری نداشت. در خاک‌های تیمارنشده با لجن فاضلاب تنها شکل تتمه در بین شکل‌های مختلف مس با شاخص جذب مس همبستگی معنی‌داری داشت. در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب بین غلظت مس در گیاه گندم با شکل تبادلی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری وجود داشت. در این خاک‌ها پاسخ‌های عملکرد و جذب مس با شکل‌های این عنصر

1. Qian
2. Clemente
3. Sadovnikova
4. Filgueiras
5. Rupa
6. Shukla
7. Su
8. Wong

در خاک همبستگی معنی‌داری نداشتند. بر اساس نتایج بدست آمده در خاک‌های تیمارنشده، مس تبادلی، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و تتمه بیشترین قابلیت استفاده را برای گندم داشتند، در حالی که در خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب، شکل‌های تبادلی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز در بین شکل‌های مس بیشترین قابلیت استفاده را برای گندم داشتند.

جدول 1- خلاصه روش عصاره‌گیری تسیر برای تعیین شکل‌های مس (تسیر و همکاران، 1979) *

شکل	مرحله	روش عصاره‌گیری	دما (سانتی‌گراد)	زمان (ساعت)
تبادلی	1	8 میلی‌لیتر $MgCl_2$ 1 مولار (pH =7)	دمای اتاق	2
متصل به کربنات‌ها	2	8 میلی‌لیتر CH_3COONa 1 مولار (pH=5)	دمای اتاق	6
متصل به اکسیدهای آهن و منگنز	3	20 میلی‌لیتر $NH_2OH.HCl$ 0/04 مولار (در اسید استیک 25٪)	96±3	6
متصل به ماده‌آلی	4	5 میلی‌لیتر HNO_3 0/02 مولار + 8 میلی‌لیتر H_2O_2 30٪ (pH=2) + 5 میلی‌لیتر NH_4OAC 3/2 مولار (در اسید نیتریک 20٪)	85±2	5
			دمای اتاق	0/5
تتمه	5	7 میلی‌لیتر HNO_3 4 نرمال	80±2	16

* 1 گرم خاکبرای عصاره‌گیری استفاده شد. تتمه با استفاده از روش عصاره‌گیری اسپوزیتو و همکاران (1982) اندازه‌گیری شد.

جدول 2- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

شماره خاک	رس	سیلت	کربنات کلسیم معادل (٪)	کربن آلی	pH	قابلیت هدایت الکتریکی ($dS\ m^{-1}$)	گنجایش تبادل کاتیونی ($cmol_c\ kg^{-1}$)	مس قابل استفاده ($mg\ kg^{-1}$)	مس کل ($mg\ kg^{-1}$)
1	55	40	28/7	0/72	7/8	0/13	20/9	3/25	24
2	53	44	35/6	0/30	8/1	0/13	19/3	2/03	23
3	49	39	29/4	0/51	7/9	0/12	22/5	1/50	19
4	46	42	26/4	0/71	7/8	0/14	21/6	2/82	18
5	41	42	32/2	0/54	8/1	0/13	16/0	1/98	18
6	37	44	32/5	0/80	7/6	0/16	15/6	1/76	17
7	25	33	41/0	0/47	7/7	0/21	11/5	1/70	15
8	38	55	23/1	1/19	8/1	0/24	17/9	2/97	21
9	48	46	11/3	1/16	7/8	0/25	18/5	2/30	21
10	49	46	14/8	0/970	7/9	0/23	17/9	2/90	25

جدول 3- مقادیر شکل‌های مختلف مس (میلی‌گرم در کیلوگرم) عصاره‌گیری شده در خاک‌های شاهد و تیمارشده

شماره خاک	تبادلی		متصل به کربنات‌ها		ممتصل به اکسیدهای آهن و منگنز رکزییل		متصل به ماده‌آلی		تتمه	
	شاهد	تیمارشده	شاهد	تیمارشده	شاهد	تیمارشده	شاهد	تیمارشده	شاهد	تیمارشده
1	0/40	0/86	0/71	0/85	3/20	3/23	0/33	0/51	19/5	20/8
2	0/49	0/77	0/51	0/65	2/30	2/49	0/29	0/73	19/5	19/7
3	0/35	0/73	0/71	0/76	2/03	3/10	0/23	0/33	15/4	16/2
4	0/48	0/76	0/33	0/47	2/46	2/94	0/44	0/64	14/2	15/1
5	0/33	0/62	0/85	0/89	2/12	2/44	0/41	0/32	13/9	14/5
6	0/37	0/64	0/77	0/85	1/92	2/20	0/33	0/50	13/7	14/9
7	0/17	0/42	0/58	0/76	1/44	1/88	0/39	0/43	12/1	12/7
8	0/35	0/73	0/65	0/84	2/01	2/70	0/93	1/12	16/6	18/6
9	0/33	0/68	0/57	0/67	1/75	1/77	0/91	1/09	17/9	19/0
10	0/38	0/69	0/45	0/76	1/98	2/17	1/13	1/09	20/7	22/2
میانگین	0/37a	0/69b	0/61a	0/75b	2/12a	2/48b	0/54a	0/68b	16/4a	17/4b

*حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین هر شکل مس در خاک‌های شاهد و تیمارشده با لجن فاضلاب هستند.

جدول 4- پاسخ‌های گیاه گندم در خاک‌های مورد مطالعه

شماره خاک	خاک‌های شاهد			خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب		
	غلظت (میلی‌گرم در کیلوگرم)	عملکرد (گرم در گلدان)	جذب (میلی‌گرم در گلدان)	غلظت (میلی‌گرم در کیلوگرم)	عملکرد (گرم در گلدان)	جذب (میلی‌گرم در گلدان)
1	7/33	4/19	0/031	7/60	5/72	0/043
2	5/90	6/75	0/040	7/73	6/37	0/049
3	4/95	5/77	0/029	7/03	8/42	0/059
4	6/00	6/02	0/036	7/78	9/90	0/077
5	5/73	5/82	0/033	6/10	8/76	0/053
6	4/83	4/31	0/021	5/53	7/88	0/044
7	4/27	4/34	0/019	5/47	8/50	0/046
8	5/60	6/86	0/038	7/73	6/92	0/054
9	5/55	8/72	0/048	6/27	11/71	0/073
10	6/25	6/15	0/038	6/17	7/75	0/048
میانگین	5/64b	5/89 b	0/033 b	6/74 a	8/19 a	0/055 a

***حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها در سطح احتمال 1 درصد هستند.

جدول 5- ضریب همبستگی (r) بین مقادیر شکل‌های مختلف مس و پاسخ‌های گیاه گندم

شاخص	F1	F2	F3	F4	F5	F1+F3	F1+F3+ F5
				خاک‌های شاهد			
غلظت	0/66*	-0/35ns	0/75*	0/20ns	0/75*	0/75*	0/76*
عملکرد	0/22ns	-0/53ns	-0/16ns	0/56ns	0/37ns	-0/16ns	0/30ns
جذب	0/28ns	-0/51ns	0/14ns	0/45ns	0/64*	0/14ns	0/60ns
				خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب			
غلظت	0/89**	-0/55ns	0/65*	0/47ns	0/47ns	0/72*	0/50ns
عملکرد	-0/58ns	-0/22ns	-0/45ns	0/16ns	-0/55ns	-0/43ns	-0/59ns
جذب	0/08ns	-0/53ns	0/04ns	0/24ns	-0/09ns	0/14ns	-0/12ns

F1: مس تبادلی، F2: مس متصل به کربنات‌ها، F3: مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، F4: مس متصل به ماده‌آلی و F5: مس تتمه

** معنی‌دار در سطح اطمینان 1 درصد، * معنی‌دار در سطح اطمینان 5 درصد و ns غیرمعنی‌دار

فهرست منابع:

1. Adamo, P., L. Denaix, F. Terribile and M. Zampella. 2003. Characterization of heavy metals in contaminated volcanic soils of the Solofrana river valley (southern Italy). Geoderma, 117: 347-366.
2. Agrawal, H.P. and L.M. Gupta. 1990. Evaluation of a common extractant for estimating available iron, manganese, zinc and copper in soils. Andhra Agric. J., 37:237-240.
3. Alvarez, J.M., L.M. Lopez-Valdivia, J. Novillo, A. Obrador and M.I. Rico. 2006. Comparison of EDTA and sequential extraction tests for phytoavailability prediction of manganese and zinc in agricultural alkaline soils. Geoderma, 132: 450- 463.
4. Amir, S., M. Hafidi, G. Merlina and J.C. Revel. 2005. Sequential extraction of heavy metals during composting of sewage sludge. Chemosphere, 59: 801-810.
5. Bakircioglu, D., Y. Bakircioglu Kurtulus and H. Ibar. 2011.·Investigation of trace elements in agricultural soils by BCR sequential extraction method and its transfer to wheat plants Environ Monit Assess., 175:303–314.
6. Brazauskiene, D.M., V. Paulauskas and N. Sabiene. 2008. Speciation of Zn, Cu, and Pb in the soil depending on soil texture and fertilization with sewage sludge compost. J. Soils Sediments, 8:184-192.

7. Campbell, C.R., and C.O. Plank. 1998. Preparation of plant tissue for laboratory analysis. In: Kalra, Y.P., ed. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, Taylor & Francis Group. Pp. 37-50.
8. Clemente R., A. Escolar and M.P. Bernal. 2006. Heavy metals fractionation and organic matter mineralization in contaminated calcareous soil amended with organic materials. Bioresour. Technol., 97:1894–190
9. Feng, M.H., X.Q. Shan, S.Z. Zhang and B. Wen. 2005. Comparison of a rhizosphere-based method with other one-step extraction methods for assessing the bioavailability of soil metals to wheat. Chemosphere, 59:939-949.
10. Filgueiras, A.V., I. Lavilla, and C. Bendicho. 2002. Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. Journal of Environmental Monitoring, 4: 823-857.
11. Fuentes, A., M. Llorens, J. Saez, A. Soler, M.I. Aguilar, J.F. Ortuno and V.F. Meseguer. 2004. Simple and sequential extractions of heavy metals from different sewage sludges. Chemosphere, 54:1039-1047.
12. Gee, G.W. and J.W. Bauder. 1986. Particle size analysis. In: Klute, A. ed. Methods of Soil Analysis. Part 1. 2nd edition. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI. Pp. 404-407.
13. Gupta, A.K. and S. Sinha. 2007. Assessment of single extraction methods for the prediction of bioavailability of metals to *Brassica juncea* L. Czern. (var. Vaibhav) grown on tannery waste contaminated soil. Journal of Hazardous Materials, 149:144-150
14. Han, F.X., A.T. Hu and Y.H. Qi. 1995. Transformation and distribution of forms of zinc in acid, neutral and calcareous soils of China. Geoderma, 66: 121- 135.
15. He, Z. L.L., X.E. Yang and P.J. Stoffella. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. Journal of Trace Elements in Medicine & Biology, 19: 125-140.
16. Kabata-Pendias, A., 2001. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
17. Karami, M., M. Afyuni, Y. Rezainejad and R. Schulin. 2009. Heavy metal uptake by wheat from a sewage sludge-amended calcareous soil. Nutr. Cycl. Agroecosyst, 83:51-61.
18. Liang, J., J.W.B. Stewart and R.E. Karamanos. 1991. Distribution and plant availability of soil copper fractions in Saskatchewan. Can. J. Soil Sci., 7l: 89-99.
19. Lindsay, W.L. and W.A. Norvell. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. Soil Sci. Soc. Am. J., 42: 421-428.
20. Loeppert, R.H. and D.L. Suarez. 1996. Carbonate and gypsum. *In:* Sparks, D.L. ed. Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison, pp 437-474.
21. McGrath, S.P., F.J. Zhao, S.J. Dunhum, A.R. Crosland and K. Coleman. 2000. Long-term changes in the extractability and bioavailability of zinc and cadmium after sludge application. J. Environ. Qual., 29:87-883.
22. Merrington, G., L. Winder and I. Green. 1997. The bioavailability of Cd and Zn from soils amended with sewage sludge to winter wheat and subsequently to the grain aphid Sitobionavenae. The Science of the Total Environment, 205:245-254.
23. Miller, W.P., D.C. Martens, L.W. Zelanry and E.T. Kornegay. 1986. Effects of sequence on extraction of trace metals from soils. Soil Sci. Am. J., 50: 598-601.
24. Morera, M.T., J. Echeverria and J. Garrido. 2002. Bioavailability of heavy metals in soils amended with sewage sludge. Can. J. Soil Sci., 82:433-438.
25. Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1996. Carbon, organic carbon, and organic matter. In: Sparks, D.L., ed. Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison, Pp. 961-1010.

26. Qian, J., Z. Wang, X. Shan, Q. Tu, B. Wen and B. Chen. 1996. Evaluation of plant availability of soil trace metals by chemical fractionation and multiple regression. Environmental Pollution, 91(3):309-315.
27. Rhoades, J.D. 1982. Cation exchange capacity. *In:* Page, A.L., R.H. Miller and D.R. Keeney eds. Methods of Soil Analysis. Part 2. SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
28. Rhoades, J.D. 1996. Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. In: Sparks, D.L., ed. Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison, Pp. 417-435.
29. Rupa, T.R. and L.M. Shukla. 1999. Comparison of four extractants and chemical fractions for assessing available zinc and copper in soils of India. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 30(19&20):2579-2591.
30. Sadovnikova, L., E. Otabbong, O. Iakimenko, I. Nilsson, J. Persson and D. Orlov. 1996. Dynamic transformation of sewage sludge and farmyard manure components, 2-Copper, lead and cadmium forms in incubated soils. Agric. Ecosyst. Environ., 58:127-132.
31. Saffari, M., J. Yasrebi, N. Karimian and X.Q. Shan. 2009. Evaluation of three sequential extraction methods for fractionation of zinc in calcareous and acidic soils. Research Journal of Biological Science, 4(7):848-857.
32. Sakal, R., A.P. Singh, B.P. Singh and R.B. Sinha. 1984. Evaluation of some chemical extractants for predicting response to wheat grown in pots in sub-Himalayan soils. J. Agric. Sci., 102: 659-666.
33. Sims, J.T. 1986. Soil pH effects on the distribution and plant availability of Mn, Cu, and Zn. Soil Sci. Soc. Am. J., 50: 367-373.
34. Sims, J.T. and J. Sklin. 1991. Chemical fractionation and plant uptake of heavy metals in soils amended with co-composted sewage sludge. J. Environ. Qual., 20: 387-395.
35. Sing, K., U. Shukla and S. Karwasra. 1987. Chemical assessment of the zinc status of the semiarid region of India. Fertilizer Research, 13:191-197.
36. Sommers, L.E. 1977. Chemical composition of sewage sludges and analysis of their potential use as fertilizers. J. Environ. Qual., 6(6):225-231.
37. Sposito, G.L., J. Lund and A.C. Chang. 1982. Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in solid phases. Soil Sci. Soc. Am. J., 46:260-265.
38. Stevenson, F.J. and A. Fitch. 1981. Reaction with organic matter. Page 69. *In*: Loneragan, J.F., A.D. Robson and R.D. Graham. eds. Copper in Soils and Plants. Academic Press, New York, NY.
39. Su, D.C. and J.W.C. Wong. 2003. Chemical speciation and phytoavailability of Zn, Cu, Ni and Cd in soil amended with fly ash-stabilized sewage sludge. Environ. Int., 29:895-900.
40. Tessier, A., P.G.C. Campbell, M. Bisson. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. Anal. Chem., 51: 844- 851.
41. Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. In: Sparks, D.L. ed. Methods of Soil Analysis. SSSA, Madison, Pp. 475-490.
42. Tokalioglu, S., S. Kartal and G. Birol. 2003. Application of a three-stage sequential extraction procedure for the determination of extractable metal contents in highway soils. Turkish Journal of Chemistry, 27:333346.
43. USEPA. 1993. Clean water act. section 503. Vol. 58, No. 32, USEPA. Washington, DC.
44. Wang, Z., X.Q. Shan and S. Zhang. 2001. Comparison of speciation and bioavailability of rare earth elements between wet rhizosphere soil and air-dried bulk soil. Anal. Chim. Acta., 44: 147-156.
45. Williams, D.E., J. Vlamis, A.H. Pukite and J.E. Corey. 1980. Trace element accumulation movement and distribution in the soil profile from massive applications of sewage sludge. Soil Sci., 129:119-132.