

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

حمیدرضا متقیان^{1*}، علیرضا حسین پور، 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 تیمار شده و تیمار نشده با لجن فاضلاب می‌باشد. برای تیمار خاک‌ها 10 گرم لجن فاضلاب به هر کیلوگرم خاک اضافه شد. پس از خواباندن خاک‌های تیمار شده و تیمار نشده با لجن فاضلاب به مدت یک ماه، شکل‌های تبدلی، متصل به کربنات‌ها، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، متصل به ماده آلی و تمه 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 تبدلی ($r=0/66^*$)، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز ($r=0/75^*$) و شکل تمه ($r=0/75^*$) همبستگی معنی‌داری وجود داشت. به علاوه در خاک‌ها تیمار نشده جذب مس با شکل تمه همبستگی معنی‌داری ($r=0/64^*$) داشت. همچنین نتایج نشان داد که در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب غلظت مس در گندم با شکل‌های تبدلی ($r=0/89^{**}$) و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز ($r=0/65^*$) همبستگی معنی‌داری داشت. بنابراین در خاک‌های شاهد شکل‌های تبدلی، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و تمه و در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب شکل‌های تبدلی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز می‌توانند به عنوان شکل‌های دارای قابلیت استفاده گیاه گندم به کار روند.

واژه‌های کلیدی: مس، لجن فاضلاب، گندم

مقدمه

فاضلاب در اختیار قرار نمی‌دهد (امیر³ و همکاران، 2005). هر عنصر بسته به اینکه با ترکیبات مختلف خاک مانند کربنات‌ها، اکسیدهای آهن، آلومینیوم و منگنز و ماده آلی پیوند داشته باشد، می‌تواند شکل‌های مختلفی را

کاربرد لجن فاضلاب به صورت منطقی در تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه اهمیت دارد (کرمی² و همکاران، 2009). تعیین مقدار کل عناصر کم‌نیاز از جمله مس در لجن فاضلاب اطلاعاتی درباره مقدار قابل استفاده این عنصر در خاک‌های تیمار شده با لجن

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

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 لوییا پرداختند. نتایج آنان نشان داد که جذب و غلظت مس در لوییا 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 لوییا 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. سیمز¹⁸ و کلاین¹⁹ (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 تبدلی، 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 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 (0-30 cm) که روی قابل استفاده، رس و کربنات کلسیم معادل در آنها تغییرات زیادی داشت، انجام شد. در این تحقیق بافت خاک

تشکیل دهد (کاباتا-پندیاس¹، 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 (هان² و همکاران، 1995؛ وانگ³ و همکاران، 2001؛ آدامو⁴ و همکاران، 2003). بنابراین جداسازی شکل‌های عناصر برای برآورد مقدار قابل استفاده آنها حائز اهمیت است (صفاری⁵ 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 (سینگ⁶ و همکاران 1987؛ آگروال⁷ و گوپتا⁸، 1990؛ فونتز⁹ و همکاران، 2004؛ فنگ¹⁰ و همکاران، 2005؛ گوپتا¹¹ و سینا¹²، 2007). یکی از اولین روش‌های عصاره‌گیری متوالی به وسیله تسیر¹³ و همکاران (1979) ارائه و به صورت گسترده‌ای در تعیین شکل‌های عناصر سنگین به شکل‌های تبدلی، متصل به کربنات‌ها، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، متصل به ماده‌آلی و تنه در خاک‌ها به کاربرده می‌شود (آلوارز¹⁴ و همکاران، 2006).

در تحقیقات زیادی قابلیت استفاده شکل‌های مختلف مس برای گیاهان بررسی شده است (لیانگ¹⁵ و همکاران 1991؛ باکرسی اوقلو¹⁶ و همکاران، 2011؛ سیمس¹⁷، 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

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

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 مزرعای ثابت بماند. گیاهان 8 هفته پس از جوانه‌زدن برداشت شده، بخش‌های هوایی با آب مقطر شسته و به مدت 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 (کمپل¹² و بلانک¹³، 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 تیمار شده و تیمار نشده 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.

به‌روش هیدرومتر (گی¹ و بودر²، 1986)، pH خاک در سوسپانسیون دو به یک آب به خاک (توماس³، 1996)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره دو به یک آب به خاک (رودز⁴، 1996)، کربنات کلسیم معادل به‌روش تیتراسیون (لوپرت⁵ و سوارز⁶، 1996)، گنجایش تبادل کاتیونی به‌روش استات سدیم در pH برابر با 7 (رودز، 1982)، ماده‌آلی به‌روش اکسیداسیون مرطوب (نلسون⁷ و سامرس⁸، 1996) تعیین شدند. مقادیر قابل استفاده و کل مس به ترتیب با استفاده از DTPA-TEA (لیندزی⁹ و نورول¹⁰، 1978) و هضم با اسید نیتریک 4 مولار (اسپوزیتو¹¹ 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 به ترتیب 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 تیمار شده و خاک‌های تیمار نشده به حدود ظرفیت مزرعای رسانده و به مدت 1 ماه خوابانده شدند. در طول دوره انکوباسیون رطوبت خاک‌ها در حدود ظرفیت مزرعای ثابت شد. در پایان دوره انکوباسیون و قبل از کشت، شکل‌های مختلف مس با روش تیسیر و همکاران (1979) تغییر یافته در تعیین شکل تنم در خاک‌های تیمار شده و تیمار نشده 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

1. Gee
2. Bauder
3. Thomas
4. Rhoades
5. Loepfert
6. Suarez
7. Nelson
8. Sommers
9. Lindsay
10. Norvell
11. Sposito

12. Campbell

13. Plank

(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 میلر¹ و همکاران (1986) گزارش شده است. باکرسی اوقلو و همکاران (2011) گزارش کردند که شکل تنمه 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 عصاره‌گیری بخشی از مس متصل به ماده‌آلی را نیز داشته باشد. همچنین، ساکال² 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 استونسون³ و فیتچ⁴ (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

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 به ترتیب 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 و 300 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 تبدلی 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 تبدلی، 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 تنمه 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 تبدلی با میانگین 0/69 میلی‌گرم در کیلوگرم حداقل (3/1٪ از کل مس) مقدار را داشت. بعد از مس تبدلی، 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 تنمه 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 تنمه شناخته می‌شود

¹ Miller

² Sakal

³ Stevenson

⁴ Fitch

افزایش مصرف لجن فاضلاب جذب و عملکرد گیاه آفتابگردان افزایش یافت.

جدول 5 ضرایب همبستگی بین مقادیر شکل‌های مختلف مس در خاک‌های شاهد و تیمار شده 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 تبدالی و مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری داشت. ضرایب همبستگی غلظت مس در گندم با مس تبدالی و مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز به ترتیب 0/66 و 0/75 بود. بین شاخص عملکرد و شکل‌های مس همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین جذب کل مس تنها با شکل تنمه در بین شکل‌های مختلف مس همبستگی معنی‌داری (r=0/64) داشت. بر اساس نتایج این جدول، غلظت مس در گندم با مجموع شکل‌های تبدالی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و با مجموع شکل‌های تبدالی، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و تنمه همبستگی معنی‌داری (ضرایب همبستگی به ترتیب 0/69 و 0/75) داشت.

بر اساس نتایج جدول 5 در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب، بین غلظت مس در گندم با مس تبدالی 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 تبدالی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری (r=0/72) داشت. در خاک‌های تیمار شده 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 (توکالی‌اوقلو⁶ 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 تنمه قابل استفاده گیاه نیست، عناصر در محلول خاک و شکل تبدالی قابلیت استفاده زیادی برای گیاه دارند و همچنین شکل‌های متصل به کربنات‌ها، متصل به اکسیدها و متصل به ماده آلی نیز می‌توانند قابل استفاده گیاه باشند (هی⁷ و همکاران، 2005). در برخی تحقیقات به جز مس تنمه سایر شکل‌های در برآورد مس قابل استفاده گیاه اهمیت دارند،

در سطح احتمال 1٪ داشتند. بر اثر افزودن لجن فاضلاب به خاک‌ها، میانگین شکل تبدالی 1/89، شکل متصل به کربنات‌ها 1/22، شکل متصل به اکسیدهای آهن و منگنز 1/17، شکل متصل به ماده آلی 1/26 و شکل تنمه 1/06 برابر افزایش یافت. ویلیامز¹ و همکاران (1980) و مک‌گراف² 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 آزاد شده از لجن فاضلاب در فازهای تبدالی، متصل به ماده آلی، متصل به کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز قرار گرفته بود. برازاوسکین³ و همکاران (2008) مشاهده کردند که با افزودن لجن فاضلاب به خاک‌ها، مقدار مس تبدالی افزایش یافته و در طی انکوباسیون این عنصر از شکل‌های تبدالی، متصل به کربنات‌ها و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز به شکل‌های متصل به ماده آلی و تنمه انتقال می‌یابد.

نتایج بررسی قابلیت هدایت الکتریکی خاک‌ها پس از کشت نشان داد که قابلیت هدایت الکتریکی خاک‌های تیمار شده 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 شور کردن 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 تیمار شده با لجن فاضلاب (به غیر از غلظت مس در خاک شماره 10) افزایش معنی‌داری در سطح اطمینان 1٪ داشتند. مرینگتون⁴ و همکاران (1997) گزارش کردند که با افزایش مصرف لجن فاضلاب در خاک‌ها، غلظت مس در بخش‌های هوایی گیاه گندم افزایش می‌یابد. موررا⁵ و همکاران (2003) قابلیت استفاده مس برای گیاه آفتابگردان در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب را مطالعه کردند. نتایج آنان نشان داد که با

1. Williams

2. McGrath

3. Brazauskienė

4. Merrington

5. Morera

6. Tokalioglu

7. He

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 تبادل با شاخص جذب مس همبستگی معنی‌داری (ضرایب همبستگی به ترتیب **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 تیمار شده با لجن فاضلاب نیز مانند خاک‌های شاهد شکل‌های متفاوتی برای برآورد مس قابل استفاده گزارش شده‌اند. سیمز و کلاین (1991) مشاهده کردند که شکل‌های تبدلی، متصل به ماده‌آلی، متصل به کربنات‌ها و متصل به اکسیدها توانایی برآورد غلظت مس در گیاه گندم خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب را داشتند. در حالی که سو⁷ و ونگ⁸ (2003) گزارش کردند که غلظت مس در گیاه ذرت همبستگی معنی‌داری با مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز (*0/81=r) و مقدار کل مس (*0/79=r) در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب داشت.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد در خاک‌های تیمار شده و تیمار نشده با لجن فاضلاب در بین شکل‌های مس، شکل تبدلی حداقل و شکل تهمه حداکثر مقدار را به‌طور مطلق داشتند. بعد از مس تهمه، 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 تبدلی و متصل به ماده‌آلی بیشترین افزایش را یافتند. در خاک‌های تیمار نشده با لجن فاضلاب، غلظت مس در گیاه گندم با مس تبدلی 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 تیمار نشده با لجن فاضلاب تنها شکل تهمه در بین شکل‌های مختلف مس با شاخص جذب مس همبستگی معنی‌داری داشت. در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب بین غلظت مس در گیاه گندم با شکل تبدلی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز همبستگی معنی‌داری وجود داشت. در این خاک‌ها پاسخ‌های عملکرد و جذب مس با شکل‌های این عنصر

کیان¹ و همکاران (1996) گزارش کردند معادله رگرسیونی شامل مس تبدلی، 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 به ترتیب *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 به ترتیب *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 تبدلی 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. کلمنت² و همکاران (2006) گزارش کردند که هوموسی‌شدن ماده‌آلی لجن فاضلاب منجر به افزایش فولیک اسید در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب می‌شود. در این خاک اسید فولیک توانایی پیوند با عنصر مس را داشته و منجر به افزایش قابلیت استفاده مس می‌شود (سادونیکووا³ و همکاران، 1996). در حالی که شکل‌های ماده‌آلی با وزن ملکولی زیاد، مقدار کمی از عناصر پیوندشده را با سرعت کم آزاد می‌کنند (فیلگواراس⁴ و همکاران، 2002). بنابراین اثر لجن فاضلاب بر قابلیت استفاده مس به سرعت تجزیه ماده‌آلی و شکل‌های آن بستگی دارد. روپا⁵ و شوکلا⁶ (1999)

1. Qian
2. Clemente
3. Sadvnikova
4. Filgueiras
5. Rupa
6. Shukla

7. Su

8. Wong

با لجن فاضلاب، شکل‌های تبدلی و متصل به اکسیدهای آهن و منگنز در بین شکل‌های مس بیشترین قابلیت استفاده را برای گندم داشتند.

در خاک همبستگی معنی‌داری نداشتند. بر اساس نتایج بدست آمده در خاک‌های تیمارنشده، مس تبدلی، متصل به اکسیدهای آهن و منگنز و تمه بیشترین قابلیت استفاده را برای گندم داشتند، در حالی که در خاک‌های تیمارنشده

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

شکل	مرحله	روش عصاره‌گیری	دما (سانتی‌گراد)	زمان (ساعت)
تبدلی	1	8 میلی‌لیتر 1 M CaCl_2 مولار (pH=7)	دمای اتاق	2
متصل به کربنات‌ها	2	8 میلی‌لیتر 1 CH_3COONa مولار (pH=5)	دمای اتاق	6
متصل به اکسیدهای آهن و منگنز	3	20 میلی‌لیتر 0/04 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ مولار (در اسید استیک 25٪)	96±3	6
متصل به ماده آلی	4	5 میلی‌لیتر 0/02 HNO_3 مولار + 8 میلی‌لیتر 30٪ H_2O_2 (pH=2)	85±2	5
		+		
		5 میلی‌لیتر 3/2 NH_4OAc مولار (در اسید نیتریک 20٪)	دمای اتاق	0/5
تمه	5	7 میلی‌لیتر 4 نرمال HNO_3	80±2	16

^{*} 1 گرم خاکبرای عصاره‌گیری استفاده شد. تمه 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 ($\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$)	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 تیمارنشده

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

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

جدول 4- پاسخ‌های گیاه گندم در خاک‌های مورد مطالعه

شماره خاک	خاک‌های شاهد			خاک‌های تیمارشده با لجن فاضلاب		
	غلظت (میلی گرم در کیلوگرم)	عملکرد (گرم در گلدان)	جذب (میلی گرم در گلدان)	غلظت (میلی گرم در کیلوگرم)	عملکرد (گرم در گلدان)	جذب (میلی گرم 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

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

F1: مس تبادل، F2: مس متصل به کربنات‌ها، F3: مس متصل به اکسیدهای آهن و منگنز، F4: مس متصل به ماده آلی و F5: مس تهمه

** 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. Brazauskienė, D.M., V. Paulauskas and N. Sabienė. 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.*, 71: 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.