

ارزیابی چند عصاره‌گیر شیمیایی برای تعیین مس قابل استفاده لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) در خاک‌های تیمار شده و تیمار نشده با لجن فاضلاب شهری

حمیدرضا متقیان^{۱*} و علیرضا حسین‌پور^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۲۵)

چکیده

تعیین مقدار قابل استفاده مس برای ارتقاء کمی و کیفی محصولات کشاورزی ضروری است. برای این هدف، باید از عصاره‌گیر مناسب استفاده شود. این پژوهش به منظور ارزیابی چند روش عصاره‌گیری در برآورد مس قابل استفاده در ۱۰ خاک آهکی تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب زیر کشت لوبیا در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. مس قابل استفاده با ۷ روش عصاره‌گیری (AB-DTPA, DTPA-TEA, مهلیچ ۱، مهلیچ ۲، مهلیچ ۳، HCl ۰/۱ نرمال و کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار) پس از یک ماه خواباندن خاک‌ها، تعیین شد. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار مس در خاک‌های تیمار شده و تیمار نشده با لجن فاضلاب با استفاده از روش مهلیچ ۳ و کمترین آن با استفاده از روش کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار عصاره‌گیری شد. در بین عصاره‌گیرهای مورد استفاده در خاک تیمار نشده، مس عصاره‌گیری شده با DTPA-TEA همبستگی معنی‌داری با غلظت و جذب مس در اندام هوایی لوبیا داشت. همچنین، در خاک‌های تیمار شده، ماده خشک، غلظت و جذب مس در اندام هوایی لوبیا همبستگی معنی‌داری با مس عصاره‌گیری شده با روش‌های AB-DTPA, DTPA-TEA و مهلیچ ۳ داشت. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره‌گیر مناسب برآوردکننده مس قابل استفاده خاک برای گیاه لوبیا در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب، DTPA-TEA بود.

واژه‌های کلیدی: قابلیت دسترسی مس، DTPA-TEA، خاک‌های آهکی

مقدمه

معمول مقدار کل مس در آنها کم است، در خاک‌های اسیدی و خاک‌های آهکی که مس قابل استفاده کمی دارند، عمومیت بیشتری دارد.

خاک‌های مناطق خشک عموماً آهکی و دارای pH نسبتاً زیاد بوده، و در نتیجه بسیاری از گیاهان رشد کرده در این خاک‌ها همواره با مشکل تغذیه عناصر کم‌نیاز، مانند مس، روبرو هستند. استفاده از لجن فاضلاب (Sewage sludge) در زمین‌های کشاورزی ایران در حال افزایش است. کشاورزان به‌دلیل ارزان بودن این کود تمایل زیادی برای مصرف آن دارند.

مس در گیاه نقش‌های متعددی از جمله شرکت در ساختمان پلاستوسیانین، پراکسیداز، اسکوربیک اسید اکسیداز، مس-روی دیسموتاز، سیتوکروم اکسیداز، فنولاز و لاکتاز، چوبی‌شدن و تشکیل دانه‌گرده دارد (۱ و ۱۹). مس همانند آهن در واکنش‌های انتقال الکترون شرکت می‌کند و به‌راحتی از حالت دو ظرفیتی به یک ظرفیتی کاهش می‌یابد. نقش اصلی این عنصر در گیاهان، فعال کردن آنزیم واکنش اکسایش-کاهش است (۱). کمبود مس در خاک‌های آلی، خاک‌های شنی که به‌طور

۱. گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hrm_61@yahoo.com

داد که در بین عصاره‌گیرهای مورد استفاده در خاک تیمار نشده، مس عصاره‌گیری شده با AB-DTPA با غلظت مس بیشترین همبستگی ($r=0/952^{**}$) را داشت. هم‌چنین، در خاک‌های تیمار شده، مس عصاره‌گیری شده با روش‌های AB-DTPA و مهلیج ۳ با غلظت مس، همبستگی به‌ترتیب $0/733^*$ و $0/734^*$ داشتند. فنگ و همکاران (۱۱) گزارش کردند که DTPA-TEA عصاره‌گیر مناسب مس در خاک‌های آهکی (دارای pH بزرگتر از ۶/۷) و EDTA عصاره‌گیر مناسب مس در خاک‌های اسیدی (دارای pH کوچکتر از ۶) برای تعیین مقدار قابل استفاده این عنصر در گیاه گندم است. کرمی و همکاران (۱۸) گزارش کردند که عصاره‌گیر DTPA-TEA در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب توانایی تعیین مقدار قابل استفاده مس برای گیاه گندم را دارد.

با وجود نقش لجن فاضلاب در برطرف کردن کمبود عناصر غذایی در خاک‌ها، نیاز به ارزیابی مقدار قابل استفاده عناصر غذایی موجود در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب وجود دارد. تعیین عصاره‌گیر مناسب برای برآورد مس قابل استفاده لوبیا در خاک‌های استان چهارمحال و بختیاری انجام نگرفته است. با توجه به اهمیت عنصر مس برای گیاه، این تحقیق با هدف امکان‌سنجی استفاده از لجن فاضلاب به‌عنوان کود آلی در برطرف کردن کمبود این عنصر و ضرورت تحقیقات بیشتر جهت تعیین عصاره‌گیر مناسب برای مس قابل استفاده در خاک‌های زیر کشت لوبیا انجام شد.

مواد و روش‌ها

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها

در این پژوهش، ابتدا ۳۰ نمونه خاک از لایه سطحی (۰-۳۰ cm) خاک‌های آهکی استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شده و پس از هواخشک کردن، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. در نهایت، پس از انجام برخی از تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی، ۱۰ نمونه خاک براساس دارا بودن بیشترین تغییرات در مقدار مس قابل استفاده

خاک‌های مناطق خشک به‌علت عدم وجود پوشش گیاهی کافی و بازگشت مقدار اندک بقایای گیاهی به خاک، حاوی مقدار ناچیزی ماده آلی می‌باشند. کاربرد کودهای آلی نظیر لجن فاضلاب، به‌صورت منطقی می‌تواند سهم مهمی در تأمین نیازهای غذایی گیاهان داشته باشد (۲). به‌علاوه، کاربرد لجن فاضلاب می‌تواند سبب بهبود خصوصیات فیزیکی خاک، از جمله ظرفیت نگهداری آب، تهویه و تخلخل شود (۱۰).

آزمون خاک اطلاعات مفیدی در باره مقدار مس قابل استفاده گیاه ارائه می‌کند که در تعیین نیاز کودی گیاه استفاده می‌شود (۳۷). به‌منظور تعیین مقدار قابل استفاده عناصر در خاک از عصاره‌گیرها استفاده می‌شود. آلوی (۷) بیان کرد که برای ارزیابی توانایی هر عصاره‌گیر در برآورد مقدار مس قابل استفاده گیاه، از ضریب همبستگی بین مقدار مس عصاره‌گیری شده به‌وسیله آن عصاره‌گیر و مقدار مس جذب شده توسط گیاه استفاده شود. عصاره‌گیرهای مختلفی شامل اسیدها، نمک‌ها و کلات‌کننده‌ها برای تعیین مقدار قابل استفاده عنصر مس در خاک‌ها مورد استفاده قرار گرفته است (۱۱، ۱۲، ۱۴ و ۳۷).

ویژگی‌های خاک و عوامل گیاهی بر جذب عناصر توسط گیاه مؤثرند (۳۴). بنابراین، تعیین عصاره‌گیر مناسب برای گیاهان مختلف ضروری است. به‌علاوه، با تعیین مقدار کل مس در لجن فاضلاب، اطلاعاتی در باره مقدار قابل استفاده این عنصر در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب در اختیار قرار نمی‌گیرد (۲۰). بنابراین، شناسایی عصاره‌گیر مناسب مس قابل استفاده در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب می‌تواند در برآورد مقدار قابل استفاده مس در این خاک‌ها بسیار مفید باشد. متقیان و همکاران (۳) به ارزیابی چند روش عصاره‌گیری در برآورد مس قابل استفاده در ۱۰ خاک آهکی تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب (۱٪ وزنی- وزنی) زیر کشت گندم در شرایط گلخانه‌ای پرداختند. آنها مس قابل استفاده را با روش‌های عصاره‌گیری DTPA-TEA، AB-DTPA، مهلیج ۱، مهلیج ۲، مهلیج ۳، HCl ۰/۱ نرمال و کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار پس از یک ماه خواباندن خاک‌ها، تعیین کردند. نتایج آنها نشان

جدول ۱. روش‌های عصاره‌گیری شیمیایی مورد استفاده در تعیین مس قابل استفاده خاک

عصاره‌گیر	ترکیب عصاره‌گیر	خاک:عصاره‌گیر	زمان تکان دادن (دقیقه)	منبع
DTPA-TEA	۰/۰۰۵ مولار DTPA + ۰/۰۱ مولار CaCl ₂ + ۰/۱ مولار TEA (pH= ۷/۳)	۱:۲	۱۲۰	(۲۱)
AB-DTPA	۰/۰۰۵ مولار DTPA + ۱ مولار NH ₄ HCO ₃ (pH= ۷/۶)	۱:۲	۱۵	(۳۸)
مهلیج ۱	۰/۰۵ نرمال HCl + ۰/۰۲۵ نرمال H ₂ SO ₄	۱:۴	۵	(۲۵)
مهلیج ۲	۰/۲ مولار NH ₄ Cl + ۰/۰۱۵ مولار NH ₄ F + ۰/۰۱۲ مولار HCl + ۰/۲	۱:۱۰	۵	(۲۶)
مهلیج ۳	۰/۰۱۵ مولار NH ₄ F + ۰/۲۵ مولار NH ₄ NO ₃ + ۰/۰۱۳ مولار HNO ₃ + ۰/۲ مولار CH ₃ COOH + EDTA ۰/۰۰۱	۱:۱۰	۵	(۲۷)
HCl	۰/۱ نرمال HCl	۱:۵	۱۲۰	(۴۴)
کلرید کلسیم	۰/۰۱ مولار CaCl ₂	۱:۱۰	۱۲۰	(۱۷)

کشت گلخانه‌ای

برای تیمار خاک‌ها، مقدار ۱۰ گرم لجن فاضلاب به هر کیلوگرم خاک اضافه شد. به این صورت که ابتدا لجن فاضلاب با مقدار کمی از خاک مورد نظر (هر یک از ۱۰ نمونه خاک) مخلوط شد و سپس مخلوط تهیه شده با بقیه خاک مخلوط گردید. رطوبت خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب و خاک‌های تیمار نشده به حدود ظرفیت زراعی رسانده و به مدت یک ماه خوابانده شدند. در طول دوره انکوباسیون، رطوبت خاک‌ها با استفاده از توزین در حدود ظرفیت زراعی ثابت نگهداشته شد. برای تعیین عصاره‌گیر مناسب مس در خاک‌های مختلف، نیاز است که ضریب همبستگی بین مس عصاره‌گیری شده با روش‌های مختلف شیمیایی قبل از کشت و پاسخ لوییا بررسی شود. بنابراین، در پایان دوره انکوباسیون و قبل از کشت، مقدار مس در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب با عصاره‌گیرهای مختلف (جدول ۱) تعیین شد. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل دو تیمار (بدون مصرف لجن فاضلاب و خاک تیمار شده با لجن فاضلاب) در سه تکرار انجام شد. به دلیل اینکه سایر عناصر غذایی باید به مقدار کافی در اختیار گیاه باشند، براساس نتایج تجزیه خاک، به خاک‌های تیمار نشده ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیتروژن از منبع اوره در

با استفاده از دی‌تی‌پی‌ای - تری اتانول آمین (DTPA-TEA) (۲۱)، درصد رس و درصد کربنات کلسیم معادل جهت ادامه آزمایش انتخاب شدند. بافت خاک به روش هیدرومتر (۱۳)، pH خاک در سوسپانسیون دو به یک آب به خاک (۴۱)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره دو به یک آب به خاک (۳۵)، کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون (۲۲)، گنجایش تبادل کاتیونی با استفاده از روش استات سدیم (۴۰)، ماده آلی به روش اکسیداسیون تر (۳۰) و مس قابل استفاده با استفاده از ۷ روش شیمیایی (جدول ۱) تعیین شدند. مقدار کل مس خاک نیز با استفاده از هضم با اسید نیتریک ۴ مولار (۳۹) تعیین شد.

لجن فاضلاب

لجن فاضلاب شهری از تصفیه‌خانه فاضلاب شهرکرد تهیه و از الک ۱ میلی‌متری عبور داده شد. خصوصیات لجن فاضلاب شامل pH در سوسپانسیون پنج به یک آب به لجن فاضلاب، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره پنج به یک آب به لجن فاضلاب و مقدار قابل استفاده مس با DTPA-TEA (۲۱) تعیین شد. همچنین مقدار کل مس، کادمیم، نیکل، سرب و روی با استفاده از هضم با اسید نیتریک ۴ مولار (۳۹) تعیین شد. همچنین، نیتروژن، فسفر و پتاسیم اندازه‌گیری شدند.

مقایسه شد. مقایسه بین عملکرد خشک، غلظت مس اندام هوایی و مس جذب شده توسط اندام هوایی لوبیا در خاک‌های تیمار شده و تیمار نشده براساس آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که خصوصیات خاک‌ها از دامنه تغییرات وسیعی برخوردار بودند. دامنه تغییرات رس ۲۵ تا ۵۵ درصد و دامنه تغییرات سیلت ۳۳ تا ۵۵ درصد بود. خاک‌های مورد مطالعه دارای پ-هاش قلیایی و مقدار کربن آلی کم بودند. دامنه تغییرات پ-هاش ۰/۲۵ تا ۸/۱ و قابلیت هدایت الکتریکی ۰/۱۲ تا ۰/۲۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. دامنه تغییرات کربن آلی و کربنات کلسیم معادل خاک‌ها به ترتیب ۰/۳۰ تا ۱/۱۹ درصد و ۱۱/۳ تا ۴۱ درصد بود. دامنه تغییرات گنجایش تبادل کاتیونی خاک‌ها ۱۱/۵ تا ۲۲/۵ سانتی‌مول بار در کیلوگرم خاک بود. مقدار مس عصاره‌گیری شده با استفاده از DTPA-TEA خاک‌های مورد مطالعه در دامنه ۰/۵۴ تا ۱/۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و مقدار کل مس خاک‌های مورد مطالعه در دامنه ۱۵ تا ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

پیامدهای کاربرد لجن فاضلاب در اراضی کشاورزی بستگی زیادی به ویژگی‌های شیمیایی لجن فاضلاب مورد استفاده دارد. مقدار قابل استفاده و کل مس در لجن فاضلاب به ترتیب ۴۱ و ۷۸ میلی‌گرم در کیلوگرم است (جدول ۳). مقایسه مقادیر فلزات سنگین موجود در لجن فاضلاب مورد استفاده با استانداردهای آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (USEPA) نشان داد که غلظت عناصر سنگین در لجن فاضلاب کمتر از حد بالایی مقدار استاندارد این عناصر بود (۴۳).

مقدار مس عصاره‌گیری شده با روش‌های مختلف شیمیایی در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که مس عصاره‌گیری شده با روش‌های مختلف در یک خاک تغییرات زیادی داشت که نشان‌دهنده مکانیسم متفاوت عصاره‌گیرها در

ابتدای کشت اضافه شد. همچنین، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم پتاسیم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات پتاسیم و ۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک از منبع سکوسترین ۱۳۸ قبل از کشت گیاه به خاک‌ها اضافه شد. همچنین، مقدار کود فسفر پس از تعیین فسفر قابل استفاده خاک‌ها (۳۲)، قبل از کشت گیاه، از منبع منوکلسیم فسفات به هر گلدان اضافه شد.

بذرهای لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) (رقم صیاد) با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۳٪ استریل و پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در آب مقطر، با استفاده از مایه تلقیح رازویوم تلقیح شدند. سپس، ۳ بذر در هر گلدان کشت شد و در طول مدت رشد مراقبت‌های لازم انجام گرفت و سعی شد رطوبت خاک‌ها در حد ظرفیت زراعی ثابت بماند. دمای گلخانه در روز ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس و در شب ۱۵ تا ۱۸ درجه سلسیوس بود. گیاهان ۸ هفته پس از جوانه‌زدن برداشت شدند. بخش‌های هوایی با آب مقطر شستشو، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در آون تهویه‌دار خشک و سپس وزن خشک اندام‌های هوایی تعیین شد. غلظت عنصر مس در اندام‌های هوایی با روش خاکستر خشک (۹) و با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل جی‌بی‌سی، ۹۳۲) تعیین و سپس مس جذب شده توسط اندام هوایی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\begin{aligned} &= \text{مس جذب شده (میلی‌گرم در گلدان)} \\ &\times \text{غلظت مس اندام هوایی (میلی‌گرم در کیلوگرم)} \\ &\text{عملکرد خشک (کیلوگرم در گلدان)} \end{aligned} \quad [1]$$

آنالیز آماری

ضرایب همبستگی بین عملکرد خشک، غلظت مس اندام هوایی، مس جذب شده توسط اندام هوایی لوبیا و مقدار مس قابل استفاده خاک (عصاره‌گیری شده با استفاده از ۷ روش شیمیایی) تعیین و براساس معنی‌دار بودن همبستگی، عصاره‌گیر یا عصاره‌گیرهای مناسب انتخاب شدند. همچنین، میانگین مس عصاره‌گیری شده با استفاده از ۷ روش شیمیایی در خاک‌های تیمار نشده با خاک‌های تیمار شده با استفاده از آزمون t-test

جدول ۲. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

شماره خاک	رس	سیلت	کربنات کلسیم		pH	قابلیت هدایت الکتریکی (dS/m)	گنجایش تبادل کاتیونی (cmol/kg)	مس قابل استفاده* (mg/kg)	مس کل (mg/kg)
			معادل	کربن آلی					
۱	۵۵	۴۰	۲۸/۷	۰/۷۲	۷/۸	۰/۱۳	۲۰/۹	۱/۱۸	۲۴
۲	۵۳	۴۴	۳۵/۶	۰/۳۰	۸/۱	۰/۱۳	۱۹/۳	۱/۵۰	۲۳
۳	۴۹	۳۹	۲۹/۴	۰/۵۱	۷/۹	۰/۱۲	۲۲/۵	۰/۸۶	۱۹
۴	۴۶	۴۲	۲۶/۴	۰/۷۱	۷/۸	۰/۱۴	۲۱/۶	۱/۱۲	۱۸
۵	۴۱	۴۲	۳۲/۲	۰/۵۴	۸/۱	۰/۱۳	۱۶/۰	۱/۰۷	۱۸
۶	۳۷	۴۴	۳۲/۵	۰/۸۰	۷/۶	۰/۱۶	۱۵/۶	۰/۸۵	۱۷
۷	۲۵	۳۳	۴۱/۰	۰/۴۷	۷/۷	۰/۲۱	۱۱/۵	۰/۵۴	۱۵
۸	۳۸	۵۵	۲۳/۱	۱/۱۹	۸/۱	۰/۲۴	۱۷/۹	۱/۳۰	۲۱
۹	۴۸	۴۶	۱۱/۳	۱/۱۶	۷/۸	۰/۲۵	۱۸/۵	۰/۸۹	۲۱
۱۰	۴۹	۴۶	۱۴/۸	۰/۹۷۰	۷/۹	۰/۲۳	۱۷/۹	۱/۴۱	۲۵
میانگین	۴۴	۴۳	۲۸/۹	۰/۷۱	۷/۹	۰/۱۷	۱۸/۲	۱/۰۴	۲۰

*: مس عصاره‌گیری شده با استفاده از DTPA-TEA.

جدول ۳. برخی ویژگی‌های لجن فاضلاب مورد استفاده

ویژگی	واحد	مقدار	حداکثر غلظت استاندارد (۴۳)
pH	-	۷/۵	-
کربن آلی	درصد	۲۰/۳	-
نیتروژن	"	۵/۷	-
فسفر	"	۱/۵	-
پتاسیم	"	۰/۴۵	-
مس قابل استفاده	میلی‌گرم در کیلوگرم	۴۱	-
روی کل	"	۱۳۲۱	۷۵۰۰
مس کل	"	۷۸	۴۳۰۰
کادمیم کل	"	۷۳	۸۵
نیکل کل	"	۴۵	۴۲۰
سرب کل	"	۵۸۳	۸۴۰

است. براساس کاهش مقدار میانگین مس عصاره‌گیری شده در خاک‌های تیمار نشده، به‌ترتیب عصاره‌گیرهای مهلیچ ۳، DTPA-TEA، AB-DTPA، HCl ۰/۱ نرمال، مهلیچ ۲، مهلیچ

استخراج این عنصر است. همچنین، در هر روش عصاره‌گیری، مس عصاره‌گیری شده در خاک‌ها تفاوت زیادی داشت که نشان‌دهنده تفاوت مس قابل عصاره‌گیری در خاک‌های مختلف

جدول ۴. مقادیر مس قابل استفاده (میلی‌گرم در کیلوگرم) عصاره‌گیری شده با استفاده از عصاره‌گیرهای مختلف در خاک‌های مورد مطالعه

شماره خاک	DTPA-TEA	AB-DTPA	مهلچ ۱	مهلچ ۲	مهلچ ۳	HCl	کلرید کلسیم
خاک‌های تیمار نشده							
۱	۳/۲۵	۶/۱۷	۰/۴۴	۰/۵۵	۶/۰۵	۰/۵۸	۰/۳۶
۲	۲/۰۳	۴/۰۷	۰/۳۵	۰/۲۹	۸/۳۵	۰/۶۸	۰/۲۴
۳	۱/۵۰	۲/۹۹	۰/۳۳	۰/۳۳	۴/۹۰	۰/۶۵	۰/۱۷
۴	۲/۸۲	۴/۶۱	۰/۳۲	۰/۵۹	۶/۹۹	۰/۷۲	۰/۱۲
۵	۱/۹۸	۳/۴۵	۰/۳۶	۰/۵۴	۶/۱۲	۰/۷۶	۰/۲۶
۶	۱/۷۶	۳/۰۸	۰/۳۷	۰/۵۲	۵/۱۵	۰/۷۶	۰/۱۲
۷	۱/۷۰	۲/۵۰	۰/۳۴	۰/۵۹	۴/۲۹	۰/۷۴	۰/۲۴
۸	۲/۹۷	۴/۵۹	۰/۴۰	۰/۷۲	۶/۷۰	۰/۷۴	۰/۱۴
۹	۲/۳۰	۳/۴۲	۰/۴۱	۰/۶۴	۶/۲۳	۰/۸۰	۰/۲۴
۱۰	۲/۹۰	۴/۶۴	۰/۳۴	۰/۸۹	۸/۲۱	۰/۷۹	۰/۱۹
میانگین	۲/۳۲a	۳/۹۵a	۰/۳۷a	۰/۵۷a	۶/۴۰a	۰/۷۲a	۰/۲۱a
خاک‌های تیمار شده							
۱	۳/۹۶	۶/۰۲	۰/۳۶	۰/۹۸	۱۱/۰۴	۰/۸۲	۰/۱۶
۲	۳/۲۱	۴/۷۲	۰/۳۷	۱/۰۰	۹/۴۳	۰/۷۶	۰/۱۲
۳	۲/۲۸	۳/۴۱	۰/۳۳	۰/۷۸	۷/۷۴	۰/۸۱	۰/۱۷
۴	۲/۱۸	۳/۷۶	۰/۳۷	۱/۰۲	۸/۲۲	۰/۸۱	۰/۱۲
۵	۲/۰۷	۳/۱۱	۰/۳۵	۰/۹۰	۷/۱۵	۰/۸۱	۰/۱۲
۶	۲/۲۴	۳/۱۱	۰/۳۵	۰/۷۶	۶/۹۴	۰/۸۰	۰/۲۴
۷	۱/۶۵	۲/۳۳	۰/۴۱	۰/۸۶	۵/۸۲	۰/۸۲	۰/۲۰
۸	۲/۶۵	۴/۰۲	۰/۴۷	۰/۷۵	۷/۶۶	۰/۸۰	۰/۲۴
۹	۱/۹۹	۳/۳۵	۰/۳۹	۰/۸۵	۷/۲۴	۰/۷۵	۰/۱۸
۱۰	۲/۶۳	۴/۱۱	۰/۴۶	۱/۱۱	۸/۸۸	۰/۸۳	۰/۱۳
میانگین*	۲/۴۹a	۳/۷۹a	۰/۳۹a	۰/۹۰b	۸/۰۱b	۰/۸۰b	۰/۱۷b

*: حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌های مس استخراج شده با هر عصاره‌گیر در خاک‌های تیمار شده با تیمار نشده در سطح احتمال ۱٪ می‌باشد.

توانایی عصاره‌گیرها در استخراج عناصر کم‌نیاز متفاوت است. توانایی زیاد عصاره‌گیر مهلیچ ۳ در عصاره‌گیری مقدار بیشتر عنصر مس به دلیل وجود کلات‌کننده اتیلن‌دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA) در ترکیب این روش عصاره‌گیری است (۲۷). هم‌چنین، هم‌ر و کلر (۱۵) و ساهوکیلو و همکاران (۳۶)

۱ و کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار قرار داشتند. از سوی دیگر، براساس کاهش مقدار میانگین مس عصاره‌گیری شده در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب، به ترتیب عصاره‌گیرهای مهلیچ ۳، AB-DTPA، DTPA-TEA، مهلیچ ۲، HCl ۰/۱ نرمال، مهلیچ ۱ و کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار قرار داشتند.

عصاره‌گیر EDTA توانایی استخراج عناصر کم‌مصرف پیوند شده با مواد آلی، اکسیدها و بخش‌هایی از عناصر موجود در کانی‌های رسی را دارد. بنابراین، افزایش میانگین مس قابل استفاده عصاره‌گیری شده با روش مهلیچ^۳ (به مقدار ۱/۶۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب نسبت به خاک‌های تیمار نشده می‌تواند به دلیل توانایی کلات EDTA در استخراج عنصر مس پیوند شده با مواد آلی، اکسیدها و بخش‌هایی از مس موجود در کانی‌های رسی و هم‌چنین وجود یون فلوراید در ترکیب این روش عصاره‌گیری باشد.

افزودن لجن فاضلاب به خاک باعث افزایش غلظت عناصر کم‌نیاز در خاک می‌شود، زیرا لجن فاضلاب همواره دارای مقدار زیادتری از این عناصر نسبت به خاک است (۲۴). کرمی و همکاران (۱۸) گزارش کردند که افزایش ۵۰ تن در هکتار لجن فاضلاب باعث افزایش معنی‌دار مقدار مس عصاره‌گیری شده با DTPA-TEA شد. در تحقیق آنها مقدار کل مس در لجن فاضلاب ۳۸۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. در حالی که در این پژوهش مقدار کل مس در لجن فاضلاب ۷۸ میلی‌گرم در کیلوگرم است. بنابراین، تغییرات کم مقدار مس قابل استفاده می‌تواند به دلیل مقدار نسبتاً کم مس در لجن فاضلاب و هم‌چنین قرارگیری مس در جزءهای معدنی در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب، که قابلیت استفاده زیادی برای گیاه ندارند، باشد (۴).

پاسخ گیاه لویا در خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود، میانگین غلظت مس اندام هوایی، ماده خشک و جذب مس در لویا در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب افزایش معنی‌داری در سطح اطمینان ۵٪ نسبت به خاک‌های تیمار نشده داشت. افیونی و همکاران (۶) افزایش مقدار جذب مس به‌وسیله گیاهان کاهو و اسفناج در اراضی تیمار شده با لجن فاضلاب را گزارش کردند. موررا و همکاران (۲۹) قابلیت استفاده مس برای گیاه آفتابگردان در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب را مطالعه کردند. نتایج آنها نشان داد که با افزایش

گزارش کردند که عصاره‌گیر EDTA بدون توجه به خصوصیات خاک و به دلیل داشتن پ- هاش کمتر نسبت به عصاره‌گیر DTPA مقدار بیشتری از عناصر کم‌نیاز خاک را عصاره‌گیری می‌کند. روش عصاره‌گیری AB-DTPA مس قابل استفاده بیشتری نسبت به روش DTPA-TEA عصاره‌گیری می‌کند (۳۸). روش عصاره‌گیری DTPA-TEA دارای پ- هاش بافر شده با استفاده از تری‌اتانول آمین و هم‌چنین محتوی کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار است که از حل شدن کربنات کلسیم و آزاد شدن عناصر محبوس شده در این ترکیب جلوگیری می‌کند (۲۱). بنابراین، عصاره‌گیری مقدار بیشتر مس در استفاده از روش AB-DTPA می‌تواند به دلیل بافر نبودن این روش باشد (۳). توانایی کم روش‌های عصاره‌گیری دارای ترکیب اسیدی مانند روش HCl ۰/۱ نرمال و روش مهلیچ ۱ می‌تواند به دلیل خنثی شدن قدرت اسیدی این عصاره‌گیرها در خاک‌های آهکی مورد مطالعه باشد. مهلیچ (۲۶) گزارش کرد که روش عصاره‌گیری مهلیچ ۱ در خاک‌های نزدیک به خنثی و آهکی توانایی عصاره‌گیری کمی دارد. با این وجود، به دلیل وارد کردن مس از منبع لجن فاضلاب به خاک‌ها، این عصاره‌گیرها نیز استفاده شدند. روش عصاره‌گیری مهلیچ ۲ محتوی اسید استیک است که دارای قدرت بافری بیشتری نسبت به اسیدهای مورد استفاده در روش مهلیچ ۱ است (۲۷). به‌علاوه، روش عصاره‌گیری مهلیچ ۲ محتوی یون فلوراید است که توانایی ترکیب با یون کلسیم و افزایش حلالیت کربنات کلسیم را دارد. روش عصاره‌گیری کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار عنصر مس جذب غیراختصاصی شده را از طریق جانشینی عصاره‌گیری می‌کند (۲۳). بنابراین، بر این اساس، روش عصاره‌گیری کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار در مقایسه با سایر روش‌های مورد استفاده، مقدار مس کمتری عصاره‌گیری کرده است.

در اثر افزودن لجن فاضلاب به خاک، مقدار مس قابل استفاده در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده، به غیر از روش‌های عصاره‌گیری مهلیچ^۳ و مهلیچ^۲ تفاوت زیادی نداشت (جدول ۴). پایپرز و همکاران (۳۳) گزارش کردند که

جدول ۵. پاسخ گیاه لوبیا در خاک‌های مورد مطالعه

جذب مس در اندام هوایی (میلی‌گرم در گلدان)		ماده خشک (گرم در گلدان)		غلظت مس اندام هوایی (میلی‌گرم در کیلوگرم)		شماره خاک
تیمار نشده	تیمار شده	تیمار نشده	تیمار شده	تیمار نشده	تیمار شده	
۰/۳۰ a	۰/۱۰ f-h	۲۲/۷۹a	۸/۰۵ k	۱۳/۱۲ a	۱۲/۷۵ ab	۱
۰/۲۵ b	۰/۱۰ f-h	۲۰/۸۸ a	۱۰/۳۲ ji	۱۲/۰۰ a-c	۹/۷۷ cd	۲
۰/۱۹ bc	۰/۰۵ h	۱۶/۲۰ de	۵/۹۱ l	۱۱/۹۷ a-c	۸/۱۰ d	۳
۰/۱۸ a	۰/۱۰ f-h	۱۵/۳۲ ef	۹/۷۰ j	۱۱/۸۱ a-c	۱۰/۲۰ b-d	۴
۰/۱۹ bc	۰/۰۸ gh	۱۵/۶۹ e	۸/۳۰ k	۱۲/۱۰ a-c	۹/۹۰ cd	۵
۰/۱۹ bc	۰/۰۸ gh	۱۶/۷۷cd	۱۰/۳۰ ji	۱۱/۰۴ a-d	۸/۱۳ d	۶
۰/۱۳ e-g	۰/۰۸ gh	۱۱/۴۵ gh	۸/۶۳ k	۱۱/۳۲ a-c	۹/۵۰ cd	۷
۰/۱۹ bc	۰/۱۲ e-h	۱۷/۴۶ c	۱۰/۹۱ hi	۱۱/۱۱ a-c	۱۰/۷۰ a-d	۸
۰/۱۷cd	۰/۱۲ e-h	۱۵/۹۲ de	۱۲/۱۴ g	۱۰/۷۵ a-d	۱۰/۱۳ b-d	۹
۰/۱۷ cd	۰/۱۱ f-h	۱۴/۶۵ f	۱۰/۴۳ ji	۱۱/۶۵ a-c	۱۰/۱۵ b-d	۱۰
۰/۲۰A	۰/۰۹B	۱۶/۷۱ A	۹/۴۷ B	۱۱/۶۹A	۹/۹۳B	میانگین*

*: حروف متفاوت برای هر ویژگی تعیین شده نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

مختلفی برای تعیین مقدار قابل استفاده مس در خاک گزارش شده است. مینیچ و همکاران (۲۸) گزارش کردند که مس عصاره‌گیری شده با DTPA توانایی برآورد مس قابل استفاده گیاه لوبیا سبز را دارد. از سوی دیگر، تیواری و ماهان کومار (۴۲) گزارش کردند که روش عصاره‌گیری HCl ۰/۱ نرمال بهترین عصاره‌گیر در تعیین مس قابل استفاده گیاه برنج بود. ابولروس و عبدل-وابید (۵) به بررسی عصاره‌گیر مناسب در تعیین مس قابل استفاده گیاه جو پرداختند. نتایج آنان نیز نشان داد که HCl ۰/۱ نرمال توانایی برآورد مس قابل استفاده گیاه جو را دارد.

در بین عصاره‌گیرهای مختلف مورد استفاده در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب، بین مس عصاره‌گیری شده با روش‌های AB-DTPA، DTPA-TEA و مهلیچ ۳ با غلظت مس اندام هوایی، ماده خشک و جذب مس در اندام هوایی لوبیا همبستگی معنی‌داری مشاهده شد. نیامانگارا و مززوا (۳۱) عصاره‌گیر EDTA را به‌عنوان مناسب‌ترین عصاره‌گیر عناصر کم‌نیاز در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب گزارش کردند.

مصرف لجن فاضلاب میزان جذب مس و عملکرد گیاه آفتابگردان افزایش یافت. متقیان و همکاران (۳) گزارش کردند که بر اثر افزودن ۱۰ گرم لجن فاضلاب به هر کیلوگرم خاک آهکی استان چهارمحال و بختیاری، ماده خشک، غلظت روی و جذب مس در گندم افزایش یافت.

ضریب همبستگی (r) بین مقادیر مس قابل استفاده عصاره‌گیری شده با استفاده از عصاره‌گیرهای مختلف و پاسخ گیاه لوبیا در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب در جدول ۶ نشان داده شده است. در خاک‌های تیمار نشده، بین غلظت مس اندام هوایی لوبیا و مس عصاره‌گیری شده با روش‌های AB-DTPA، DTPA-TEA، مهلیچ ۱ و کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار همبستگی معنی‌داری وجود داشت. هم‌چنین، بین جذب مس در اندام هوایی و مس عصاره‌گیری شده با روش DTPA-TEA نیز همبستگی معنی‌داری مشاهده شد. همبستگی معنی‌داری بین ماده خشک و مس عصاره‌گیری شده با روش HCl ۰/۱ نرمال وجود داشت (جدول ۶). روش‌های عصاره‌گیری

جدول ۶. ضریب همبستگی (r) بین مقادیر مس قابل استفاده عصاره‌گیری شده با استفاده از عصاره‌گیرهای مختلف و پاسخ گیاه لوبیا

پاسخ	DTPA-TEA	AB-DTPA	مهلیج ۱	مهلیج ۲	مهلیج ۳	HCl	کلرید کلسیم
خاک تیمار نشده							
غلظت مس	۰/۸۵**	۰/۸۵**	۰/۶۵*	۰/۳۵ ^{ns}	۰/۳۴ ^{ns}	۰/۳۴ ^{ns}	۰/۶۴*
ماده خشک	۰/۳۴ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۴۸ ^{ns}	۰/۴۹ ^{ns}	۰/۶۶*	۰/۲۲ ^{ns}
جذب مس در اندام هوایی	۰/۷۱*	۰/۵۱ ^{ns}	۰/۵۱ ^{ns}	۰/۵۶ ^{ns}	۰/۵۷ ^{ns}	۰/۳۵ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}
خاک تیمار شده							
غلظت مس اندام هوایی	۰/۷۰*	۰/۶۹*	۰/۴۲ ^{ns}	۰/۴۸ ^{ns}	۰/۷۵*	۰/۴۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}
ماده خشک	۰/۹۱**	۰/۸۹**	۰/۲۶ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۸۳**	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۴۶ ^{ns}
جذب مس در اندام هوایی	۰/۹۴**	۰/۹۱**	۰/۳۲ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۸۸**	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۳۶ ^{ns}

ns و *، ** به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی دار

روش مهلیج ۳ و کمترین مقدار آن با روش کلرید کلسیم ۰/۰۱ مولار استخراج شد. در خاک‌های تیمار نشده، بین غلظت و جذب مس در اندام هوایی لوبیا و مس عصاره‌گیری شده با DTPA-TEA همبستگی معنی‌داری وجود داشت. از سوی دیگر، در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب، بین مس عصاره‌گیری شده با عصاره‌گیرهای DTPA-TEA، AB-DTPA و مهلیج ۳ با غلظت مس اندام هوایی، ماده خشک و جذب مس در اندام هوایی لوبیا همبستگی معنی‌داری وجود داشت. در بین این عصاره‌گیرها، عصاره‌گیر DTPA-TEA بیشترین همبستگی را با ماده خشک و جذب مس در اندام هوایی لوبیا داشت. نتایج نشان داد که روش عصاره‌گیری DTPA-TEA می‌تواند در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب در تعیین مقدار قابل استفاده عنصر مس برای گیاه لوبیا مورد استفاده قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی، عصاره‌گیر مناسب عنصر مس برای سایر گیاهان زراعی تعیین شود. به‌علاوه، از روش‌های عصاره‌گیری متوالی نیز در برآورد مس قابل استفاده گیاهان استفاده شود.

در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب، عنصر مس در اجزای پیوند شده با مواد آلی و جزء باقی‌مانده قرار می‌گیرد (۸). همچنین، کلات‌کننده DTPA برای عصاره‌گیری عناصر در جزء‌های محلول، تبادل و پیوند شده با مواد آلی در خاک‌ها مناسب است (۱۶). بنابراین، روش‌های عصاره‌گیری حاوی کلات‌کننده‌ها در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب، در تعیین مقدار قابل استفاده عنصر مس برای گیاه لوبیا می‌تواند مورد استفاده قرار گیرند. نتایج مشابهی توسط متقیان و همکاران (۳) در مطالعه عصاره‌گیر مناسب مس قابل استفاده گندم در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت مس اندام هوایی، ماده خشک و جذب مس در اندام هوایی لوبیا در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب افزایش معنی‌داری در مقایسه با خاک‌های تیمار نشده داشت. بیشترین مقدار مس عصاره‌گیری شده در خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب، با

منابع مورد استفاده

- خوشگفتارمنش، ا. ح. ۱۳۸۶. مبانی تغذیه گیاه. مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان، ۴۶۲ صفحه.
- کریمی، م. م. افیونی، ی. رضایی نژاد و ا. ح. خوشگفتارمنش. ۱۳۸۷. آثار تجمعی و باقی‌مانده لجن فاضلاب شهری بر غلظت روی و

مس درخاک و گیاه گندم. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۲(۴۶-ب): ۶۳۹-۶۵۳.

۳. متقیان ح. ر.، ع. ر. حسین‌پور، ج. محمدی و ف. رئیسی. ۱۳۹۱. ارتباط شکل‌های شیمیایی مس با پاسخ‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) در خاک‌های آهکی تیمار شده و تیمار نشده با لیجن فاضلاب. مجله پژوهش‌های خاک، (در

دست چاپ).

۴. متقیان ح. ر.، ع. ر. حسین‌پور، ف. رئیسی و ج. محمدی. ۱۳۹۱. ارزیابی چند عصاره‌گیر جهت تعیین مس قابل استفاده خاک برای گندم (*Triticum aestivum* L.) در خاک‌های تیمار شده با لیجن فاضلاب. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای (در دست چاپ).

5. Aboul-Roos, S.A. and M.A. Abdel-Wabid. 1978. Evaluation of two methods of measuring available soil copper. *Beitrag Trop. Land Wirtsch Veterinarmed* 16: 155-162.
6. Afyuni, M., Y. Rezaeinejad and R. Schulin. 2006. Extractability and plant uptake of Cu, Zn, Pb and Cd from a sludge-amended Haplargid in Central Iran. *Arid Land Res. Manage.* 20(1): 29-41.
7. Alloway, B.J. 1995. *Heavy Metals in Soils*. Blackie and Sons, Ltd., Glasgow, 339 p.
8. 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.
9. Campbell, C.R. and C.O. Plank. 1998. Preparation of plant tissue for laboratory analysis. PP. 37-50. *In: Kalra, Y.P. (Ed.), Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*, CRC Press, Taylor & Francis Group.
10. Enghart, M., M. Kruger, J. Kopp and N. Dichtl. 2000. Effect of disintegration on anaerobic degradation of sewage excess sludge in downflow stationary fixed film digesters. *Water Sci. Technol.* 41: 171-179.
11. 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.
12. 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.
13. Gee, G.W. and J.W. Bauder. 1986. Particle size analysis. PP. 404-407. *In: Klute, A. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 1, 2nd edition*, Agron. Monograph 9, ASA and SSSA, Madison, WI.
14. 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. *J. Hazard. Mater.* 149: 144-150.
15. Hammer, D. and C. Keller. 2002. Changes in the rhizosphere of metal accumulating plants evidenced by chemical extractants. *J. Environ. Qual.* 31: 1561-1569.
16. Hooda, P.S. and B.J. Alloway. 1994. The plant availability and DTPA extractability of trace metals in sludge-amended soils. *Sci. Total. Environ.* 149: 39-51.
17. Hoyt, P.B. and M. Nyborg. 1971. Toxic metals in acid soil. 2. Estimation of plant available manganese. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35: 141-144.
18. Karami, M., M. Afyuni, Y. Rezaeinejad and R. Schulin. 2009. Heavy metal uptake by wheat from a sewage sludge-amended calcareous soil. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 83: 51-61.
19. Kopsell, D. and D.A. Kopsell. 2007. Copper. PP. 293-328. *In: Barker, A.V. and D.J. Pilbeam (Eds.), Handbook of Plant Nutrition*, CRC, Taylor & Francis Group, LLC.
20. Li, Q., X.Y. Guo, X.H. Xu, Y.B. Zuo, D.P. Wei and Y.B. Ma. 2012. Phytoavailability of copper, zinc and cadmium in sewage sludge-amended calcareous soils. *Pedosphere* 22: 254-262.
21. 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.
22. Loepfert, R.H. and D.L. Suarez. 1996. Carbonate and gypsum. PP. 437-474. *In: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis*, SSSA, Madison, WI.
23. Martenz, D.C. and W.L. Lindsay. 1990. Testing soils for copper, iron, manganese and zinc. *In: Westerman, R.L. (Ed.), Soil Testing and Plant Analysis*, SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
24. McGrath, S.P., F.J. Zhao, S.J. Dunham, 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: 875-883.
25. Mehlich, A. 1953. Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH₄. North Carolina Soil Testing Div. Mimeo, Raleigh, NC.
26. Mehlich, A. 1978. New extractant for soil test evaluation of phosphorus, potassium, calcium, magnesium, sodium, manganese and zinc. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 9: 477-492.
27. Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15: 1409-1416.

28. Minnich, M.M., M.B. McBride and R.L. Chaney. 1987. Copper activity in soil solution: II. Relation to copper accumulation in young snapbeans. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51: 573-578.
29. 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.
30. Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1996. Carbon, organic carbon, and organic matter. PP. 961-1010. *In: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, SSSA, Madison, WI.*
31. Nyamangara, J. and J. Mzezewa. 1999. The effect of long-term sewage sludge application on Zn, Cu, Ni and Pb levels in a clay loam soil under pasture grass in Zimbabwe. *Agric. Ecosys. Environ.* 73: 199-204.
32. Olsen, S.R., C.V. Cole, F.S. Watanabe and L.A. Dean. 1954. PP. 403-430. *In: Klute, A. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Physical Properties, Part 1, 2nd ed., Agronomy Monograph No 9, Madison, WI.*
33. Paya-Perez, A., J. Sala and F. Mousty. 1993. Comparison of ICP-AES and ICP-MS for the analysis of trace elements in soil extracts. *Intl. J. Environ. Anal. Chem.* 51: 223-230.
34. Peck T.R. and P.N. Soltanpour. 1990. The principle of soil testing. PP. 1-9. *In: R.L. Westerman (Ed.), Soil Testing and Plant Analysis, SSSA, Madison, Wisconsin, USA.*
35. Rhoades, J.D. 1996. Salinity, electrical conductivity and total dissolved solids. PP. 417-435. *In: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, SSSA, Madison, WI.*
36. Sahuquillo, A., A. Rigol and G. Rauret. 2003. Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments. *Trend Anal. Chem.* 22: 152-159.
37. Sing, K., U. Shukla and S. Karwasra. 1987. Chemical assessment of the zinc status of the semiarid region of India. *Fert. Res.* 13: 191-197.
38. Soltanpour, P.N. and A.P. Schwab. 1977. A new soil test for simultaneous extraction of macro- and micro-nutrients in alkaline soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 8(3): 195-207.
39. 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.
40. Sumner, M.E. and P.M. Miller. 1996. Cation exchange capacity and exchange coefficient. PP. 1201-1230. *In: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, SSSA, Madison, WI.*
41. Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. PP. 475-490. *In: Sparks, D.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, SSSA, Madison, WI.*
42. Tiwari, R.C. and B. Mohan Kumar. 1982. A suitable extractant for assessing plant available copper in different soils (peaty, red, and alluvial). *Plant Soil* 68: 131-134.
43. USEPA. 1993. Clean water act. Section 503, Vol. 58, No. 32, USEPA, Washington, DC.
44. 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.

Evaluation of some chemical extractants in determining available Cu for bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in untreated and municipal sewage sludge-treated soils

H. R. Motaghian^{1*} and A. R. Hosseinpur²

(Received: 10-24-2012 ; Accepted: 2-13-2013)

Abstract

Determination of copper (Cu) availability in soils is important in preferment quality and quantity of agricultural crops. To this aim, suitable extractant must be introduced. The objective of this greenhouse experiment was to evaluate several extractants to predict available Cu of cultivated bean, in 10 calcareous soils, untreated and treated with municipal sewage sludge. After one month of incubation of soils, available Cu was determined using 7 chemical procedures (DTPA-TEA, AB-DTPA, Mehlich 1, Mehlich 2, Mehlich 3, 0.1 N HCl and 0.01 M CaCl₂). The results showed that Mehlich 3 and 0.01 M CaCl₂ in treated and untreated soils extracted the highest and the lowest amount of Cu, respectively. Among the extractants used for untreated soils, significant correlation was found between extracted Cu using DTPA-TEA with concentration and uptake of Cu in shoots. In addition, in sewage sludge-amended soils, correlation between extracted Cu using DTPA-TEA, AB-DTPA and Mehlich 3 and concentration, dry matter and uptake of Cu was significant. In general, the results of this research showed that DTPA-TEA could be used to predict available Cu in untreated and sewage sludge-treated calcareous soils under bean cultivation.

Keywords: Copper availability, DTPA-TEA, Calcareous soils.

1, 2 Assistant Prof. and Prof. of Dept. of Soil Sci., College of Agric., Shahrekord Univ., Shahrekord, Iran, respectively.

*: Corresponding Author, Email: hrm_61@yahoo.com