نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۱، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۹۶، ص. ۱۷۸-۱۶۸

Journal of Water and Soil
Vol. 31, No. 1, Mar.-Apr. 2017, p. 168-178

ارزیابی اثر کرم خاکی و لجن فاضلاب شهری بر کیفیت میکروبیولوژیک و بیوشیمیایی خاک با استفاده از روش تجزیه‌ی چند متغیره

هانیه جعفری وفا[1*] – فایز رئیسی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۶

چکیده

استفاده از پسماندهای آلی همچون لجن فاضلاب در خاک‌های کشاورزی با ماده‌ی آلی کم شیوه‌ای متداول برای اصلاح و بهبود شرایط خاک محسوب می‌شود. با این حال، مصرف لجن فاضلاب ممکن است از طریق افزایش سوبسترای قابل دسترس و به عنوان یک منبع غذایی، اثر جانوران خاک به ویژه کرم خاکی برشاخص‌های زیستی نظیر فعالیت میکروبی و آنزیمی و در پی آن کیفیت میکروبیولوژیک خاک را تغییر دهد. به همین دلیل هدف این پژوهش ارزیابی عکس‌العمل ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک به مصرف لجن فاضلاب در حضور کرم خاکی بود. تیمارهای آزمایش شامل لجن فاضلاب (در دو سطح بدون لجن فاضلاب و ۱/۵ درصد لجن فاضلاب) به عنوان فاکتور اول و کرم خاکی [در چهار سطح بدون کرم خاکی، گونه‌ی آیزنیافتیدا (اپی‌ژئیک)، گونه‌ی آلولوبوفورا کالیژینوزا (اندوژئیک) و مخلوط دو گونه] به عنوان فاکتور دوم بودند که به صورت فاکتوریل ۴×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و شرایط گلخانه برای مدت ۹۰ روز اجرا شد. نتایج تجزیه‌ی عامل نشان داد که سه مؤلفه‌ی اول دارای ارزش ویژه‌ی بیشتر از یک بوده و جمعاً ۸۹ درصد تغییرات را توجیه کردند. بر اساس نمودار دو بعدی اغلب ویژگی‌های میکروبی خاک با مصرف لجن فاضلاب افزایش یافتند که این اثر مثبت به دلیل بالا بودن میزان مواد آلی و عناصر غذایی و همچنین غلظت پایین فلزات سنگین در این پسماند آلی بود. همچنین با مصرف لجن، وابستگی گونه‌ی آیزنیافتیدا به ریزجانداران به عنوان منبع غذایی کاهش یافت ولی گونه‌ی آلولوبوفورا کالیژینوزا به دلیل تغذیه‌ی انتخابی از ریزجانداران، همچنان به زیست‌توده‌ی میکروبی وابسته بود و اثرات مثبت به همراه داشت.

واژه‌های کلیدی: تجزیه به مؤلفه‌ی اصلی، تجزیه‌ی عامل، کیفیت خاک

مقدمه

جامعه‌ی میکروبی خاک در تجزیه‌ی مواد آلی، تولید آنزیم و گردش عناصر غذایی دارای اهمیت فراوان می‌باشد (۲۹) و به همین دلیل خصوصیات میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی یک خاک از حساس‌ترین ویژگی‌های کیفیت آن به شمار می‌روند (۱۹). از سوی دیگر مواد آلی خاک مخزن فعال کربن و عناصر غذایی لازم برای رشد گیاه و یکی از اجزای اساسی برای حاصل‌خیزی و کیفیت خاک عنوان شده است (۱۸). اکثر خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک ایران کمتر از یک درصد ماده‌ی آلی دارند (۳۶) و به دلیل pH بالا ناشی ازحضور کربنات‌ها و مقادیر پایین ماده‌ی آلی اغلب با کمبود عناصر غذایی به شکل قابل جذب برای گیاه روبرو می‌باشند (۲۳). یکی از راه‌های حل این مشکل استفاده از اصلاح‌کننده‌های آلی ارزان قیمت مانند لجن فاضلاب شهری است (۱۸). با این حال، برخی از این لجن‌ها دارای فلزات سنگین با غلظت بیش از حد آستانه‌ی تحمل ریزجانداران خاک و گیاهان هستند (۲۳) که در نهایت ممکن است اثر سوء بر سلامتی انسان، حیوان، گیاهان و حتی موجودات زنده خاک داشته باشند (۳۹). کرم‌های خاکی یکی از مهم‌ترین جانوران ساکن خاک به شمار می‌آیند (۱۷) که اثرات مثبت فعالیت آنها بر فرآیندهای مختلف میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی در خاک‌های غیرآلوده و بدون مصرف لجن فاضلاب همواره گزارش شده است (۲۱ و ۳۰). اما نقش این گروه از جانوران در فرایندهای مختلف خاک ممکن است بر اثر مصرف لجن فاضلاب و فراهم نمودن ماده غذایی لازم برای آنها در خاک‌های کشاورزی تغییر یابد (۱۵).

به طور معمول استفاده از شاخص‌های مختلف زیستی به دلیل حساسیت بالای آنها بهترین شیوه پایش کیفیت خاک‌هایی که در آنها

۱ و ۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد گروه مهندسی خاکشناسی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
(*- نویسنده مسئول: (Email: hjafarivafa@gmail.com
DOI: 10.22067/jsw.v31i1.50082

لجن فاضلاب به کاربرده می‌شود، می باشد (۱۹ و ۲۷). از طرف دیگر اندازه‌گیری فعالیت‌های میکروبی و (میکرو) بیولوژیکی پیچیده، تنها با اندازه‌گیری یک پارامتر ساده امکان‌پذیر نیست. از این رو به نظر می‌رسد که تعیین همزمان چند پارامتر، روش مناسبی برای پی بردن به تغییرات ایجاد شده در شرایط زیستی و در نتیجه کیفیت خاک باشد (۲۴). برای سهولت ارزیابی شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده و تفسیر دقیق تر نتایج در مطالعات خاکشناسی، اغلب از روش‌های تجزیه‌ی چند متغیره استفاده می شود (۷ و ۴۲). تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal Components Analysis, PCA) یا تجزیه فاکتور (Factor Analysis) یکی از انواع روش‌های تحلیل داده‌های چند متغیره است که هدف اصلی آن کاهش تعداد متغیرهای اولیه‌ی مورد مطالعه می‌باشد. با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی می‌توان تعداد زیادی متغیر توضیحی همبسته را با تعداد محدودی متغیر توضیحی جدید و غیرهمبسته که فاکتور یا مؤلفه‌های اصلی (Principal Components) نامیده می‌شوند، جایگزین نمود (۳۸). غیر همبسته بودن توابع خطی جدید (مؤلفه‌های اصلی) بدان مفهوم است که مؤلفه‌های مورد نظر قادر به ارائه‌ی حداکثر اطلاعات موجود در ابعاد جدید و کوچکتر داده‌ها می‌باشند (۲۸). به این ترتیب نه تنها بعد سیستم تقلیل می‌یابد، بلکه مشکل همراستایش چندگانه (multicollinearity) نیز پیش نمی‌آید. در این روش، اغلب می‌توان به ساختار منطقی داده‌ها پی برد و الگوی تغییرات ناشی از تیمارها را بهتر مشخص و ترسیم کرد (۳۸). پژوهشگران زیادی به بررسی کیفیت میکروبیولوژیک خاک با استفاده از روش‌های چند متغیره پرداخته و به کارایی بالاتر این روش اذعان داشتند (۱۰ و ۲۰). بنابراین هدف این پژوهش بررسی تغییرات کیفیت میکروبیولوژیک خاک بر اثر کاربرد لجن فاضلاب در حضور کرم خاکی با استفاده از روش‌های تجزیه‌ی چند متغیره و انتخاب حساس‌ترین متغیرهای خاک بود.

مواد و روش‌ها

اجرای آزمایش و اعمال تیمارها

خاک آهکی مورد مطالعه از اراضی دانشگاه شهرکرد انتخاب شد، دارای بافت لوم رسی و بدون سابقه کشت برای مدت ده سال بود. نمونه‌ی خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری به میزان لازم جمع‌آوری و پس از هوا خشک شدن، از الک ۲ میلی‌متر عبور داده شد. لجن فاضلاب مورد استفاده از حوضچه‌های جمع‌آوری لجن تصفیه‌خانه‌ی شهرکرد نمونه‌برداری و پس از هوا خشک شدن از الک یک میلی‌متری عبور داده شد. بر اساس استانداردهای جهانی (۴) میزان فلزات سنگین این لجن کمتر از حد بحرانی بود (جدول ۱).

آزمایش به صورت فاکتوریل ۴×۲ درقالب طرح کاملاً تصادفی به اجرا درآمد. دو فاکتور شامل لجن فاضلاب (بدون لجن و ۱/۵ درصد لجن فاضلاب شهری معادل ۵۸/۵ تن در هکتار) و کرم خاکی [بدون کرم، با آیزنیافتیدا (*Eisenia foetida*) (اپی‌ژئیک)، با آلولوبوفورا کالیژینوزا (*Allolobophra caliginosa*) (اندوژئیک) و مخلوط این دو گونه]، به عنوان تیمارها انتخاب و مطالعه گردید. ۲۴ گلدان (واحد آزمایشی) برای ۸ تیمار مختلف، هر کدام با سه تکرار در نظر گرفته شد. با توجه به اهمیت و تأثیر جایگاه اکولوژیکی کرم خاکی در عادت‌های غذایی و نقش آن در اکوسیستم (۱۶)، دو گونه‌ی مختلف کرم خاکی با جایگاه اکولوژیکی اپی‌ژئیک و اندوژئیک مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۱- برخی خصوصیات شیمیایی لجن فاضلاب و خاک مورد مطالعه

Table 1- Some chemical properties of sewage sludge and soil used

ویژگی Feature	واحد Unit	لجن فاضلاب Sewage sludge	خاک Soil
EC	($dS\ m^{-1}$)	1.02 (1:5)	0.167 (1:2)
pH (H_2O)	-	6.01 (1:5)	8.34 (1:2)
کربن آلی Organic Carbon	($g\ C\ kg^{-1}$)	359	5.36
نیتروژن کل Total Nitrogen	($g\ N\ kg^{-1}$)	55.9	0.509
فسفر قابل دسترس Available Phosphorus	($mg\ kg^{-1}$)	400	4.36
Total Cu*	($mg\ kg^{-1}$)	73.2	11.7
Total Pb	($mg\ kg^{-1}$)	46.1	7.8
Total Zn	($mg\ kg^{-1}$)	1163	29.5

* غلظت کل عناصر سنگین (۳۷)

*Total concentrations of heavy metals (37)

گونه‌ی آیزنیافتیدا از لابراتوار جانورشناسی دانشکده‌ی علوم دانشگاه شهرکرد تهیه شد. گونه‌ی دیگر به روش دستی از اراضی دشت شهرکرد جمع‌آوری گردید. تعدادی از این کرم‌های خاکی جهت شناسایی جنس و گونه بر مبنای ویژگی‌های مورفولوژیک توسط دستگاه بانیوکولار به آزمایشگاه انتقال یافتند. در نهایت با استفاده از کلیدهای شناسایی، این کرم خاکی متعلق به خانواده *Lumbricidae*، جنس *Allolobophra* و گونه‌ی *caliginosa* بود. تکثیر کرم‌های خاکی در جعبه‌های چوبی و با بستر پرورش کود حیوانی پوسیده و الک شده به همراه خاک برگ و خاک صورت گرفت. برای مرطوب نگه داشتن این بستر هر سه روز یکبار مقداری آب اضافه شد. در نهایت کرم‌ها طی دو ماه تکثیرشدند.

در گلخانه‌ی دانشگاه شهرکرد گلدان‌های با گنجایش ۸ کیلوگرم، با خاک عبور داده شده از الک ۲ میلی‌متری پر شده و تیمار لجن فاضلاب اعمال گردید. پس از آن خاک گلدان‌ها سه ماه برای رسیدن به تعادل نسبی آبیاری شد. برای تخلیه‌ی محتوای روده‌ی کرم‌های خاکی مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت درون سینی استریل به حالت نیمه شناور نگهداری شدند. به هرگلدان تعداد ۸ عدد کرم خاکی بالغ با طول حدود ۵ تا ۶ سانتی‌متر به صورت چهار تیمار بدون کرم خاکی، با آیزنیافتیدا، با آلولوبوفورا کالیژینوزا، مخلوط این دو گونه اضافه گردید. به منظور جلوگیری از خروج کرم‌های خاکی، سطح گلدان‌ها با یک توری نازک بسته شد. پس از گذشت ۹۰ روز خاک گلدان را کاملاً مخلوط نموده و به مقدار لازم جدا شد. بخشی از این نمونه‌ها در ظرف‌های دربسته و در یخچال با دمای $4^{\circ}C$ به منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های میکروبیولوژیکی نگهداری شدند و بخش دیگر برای تجزیه‌ی شیمیایی هواخشک گردید.

تجزیه‌های آزمایشگاهی

در نمونه‌های هوا خشک اندازه‌گیری برخی ویژگی‌ها مانند EC (۳۴)، pH (۴۰)، نیتروژن کل (۱۲)، فسفر قابل جذب (۳۱)، کربن آلی کل (۳۰) و غلظت عناصر سنگین مس، سرب و روی عصاره‌گیری شده با DTPA-TEA (۲۵) انجام گردید. در نمونه‌های مرطوب ویژگی‌های نیتروژن معدنی شامل نیترات+آمونیوم (۳)، کربن آلی محلول (۱۳)، سرعت تنفس (۶)، کربن زیست‌توده‌ی میکروبی (۲۲)، تنفس ناشی از سوبسترا (۱۴)، تنفس قارچی و تنفس باکتریایی (۵)، آمونیفیکاسیون آرژینین (۲) و سرعت نیتریفیکاسیون (۳) اندازه‌گیری شدند. همچنین سنجش فعالیت آنزیم‌های آریل سولفاتاز، آلکالاین فسفاتاز، اوره‌آز، هیدرولیز فلورسین دی‌استات (۳) و کاتالاز (۲۶) نیز صورت گرفت.

تجزیه‌ی عامل

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها به منظور تفکیک و جداسازی دقیق‌تر تیمارهای مورد نظر و استخراج الگوی دقیق تغییرات، از روش تجزیه عامل (Factor Analysis, FA) استفاده گردید. هر گاه p متغیر وجود داشته باشد؛ روش تجزیه‌ی عامل منجر به p مؤلفه‌ی اصلی می‌گردد که واریانس اولین مؤلفه‌ی اصلی بیشترین مقدار عددی را به خود اختصاص می‌دهد. به طور کلی مجموع واریانس‌های مؤلفه‌های اصلی با مجموع واریانس‌های متغیرهای اصلی برابر است. بنابراین مؤلفه‌های اصلی دربرگیرنده‌ی تمامی تغییرپذیری موجود در داده‌های اصلی می‌باشند (۲۸). از بین تمامی مؤلفه‌های اصلی به دست آمده، مؤلفه‌هایی باید انتخاب شوند که مجموع آنها، حداکثر تغییرپذیری داده‌ها را منعکس کند (۲۸). اغلب انتخاب تعداد محورها یا عامل‌ها بر اساس روش کیسر (Kaiser) و بردار ویژه‌ی محورها یا ضرایب عامل بر اساس معیار انتخاب (Selection Criteria, SC) صورت می‌گیرد. در انتخاب محورها بر اساس روش کیسر بایستی ارزش ویژه‌ی (Eigenvalue) هر محور بیشتر از یک باشد (۳۵). در واقع عامل‌هایی انتخاب می‌شوند که توصیف‌کننده‌ی حداقل $\frac{100}{p}$ درصد از واریانس کل هستند که در آن، p تعداد متغیرهای مورد استفاده می‌باشد (۳۸). معیار انتخاب (SC) طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود (۳۲):

$$SC = \frac{0.5}{\sqrt{\text{eigenvalue}}} \qquad (۱)$$

که در آن eigenvalue ارزش ویژه‌ی هر محور یا عامل می‌باشد. به طور کلی به تعداد متغیرهای موجود، ارزش ویژه وجود دارد که مقدار عددی برخی از آنها ممکن است برابر صفر شود. برای انتخاب بردار ویژه‌ی محورها یا ضرایب عامل بایستی قدر مطلق بردار ویژه‌ی هر محور از میزان معیار انتخاب (SC) بیشتر باشد. ضرایبی که در یک عامل اینگونه هستند، متغیرهایی می‌باشند که بیشترین تأثیر را در این عامل داشته و از سایر متغیرها اهمیت بیشتری دارند (۲۸).

مؤلفه‌های انتخاب شده با روش کوارتی‌مکس (Quartimax rotation) چرخش یافتند. چرخش کوارتی‌مکس یک چرخش متعامد (عمود بر هم) است که اغلب متغیرهای با وزن مؤلفه‌ی (Factor Loading) بالا و متوسط را روی یک مؤلفه یا عامل قرار می‌دهد (۸). این چرخش به منظور جداسازی بهتر تیمارها و قرارگیری بیشترین وزن مؤلفه روی یک عامل صورت گرفت. همچنین قابلیت اطمینان یا ضریب اشتراک متغیرها (Communality) نیز محاسبه و گزارش شد. این پارامتر که از مجموع توان دوم وزن مؤلفه‌ها در متغیر مربوطه به دست می‌آید، برآوردی از درصد واریانس نشان داده شده توسط این مؤلفه‌ها برای آن متغیر می‌باشد. این پارامتر را به عنوان قابلیت

اطمینان متغیر در نظر می‌گیرند (۸).

نتایج و بحث

تجزیه‌ی عامل بر اساس روش کیسر (۳۵)، منجر به انتخاب سه مؤلفه جدید شد. مؤلفه‌ی چهارم دارای ارزش ویژه‌ی ۰/۸۶۷ بود و به همین دلیل در آنالیز داده‌ها و تفسیر نتایج در نظر گرفته نشد. مؤلفه‌ها استخراج شده با روش کوارتی‌مکس چرخش یافتند تا بیشترین وزن مؤلفه روی یک عامل قرار گیرد. با توجه به داده های جدول ۲، مؤلفه‌های اول، دوم و سوم به ترتیب دربرگیرنده‌ی ۶۲، ۱۷/۷ و ۹/۲ درصد تغییرات (واریانس) در کل داده‌های خاک بودند و هر سه مؤلفه در مجموع حدود ۸۹ درصد از تغییرات (واریانس) داده‌ها را به خود اختصاص دادند. همانطور که پژوهشگران پیشین بیان کرده‌اند (۲۸ و ۳۲) و نتایج این پژوهش نیز نشان می‌دهد، اولین مؤلفه بیشترین واریانس را به خود اختصاص داده و به ترتیب برای سایر مؤلفه‌ها این درصد کاهش یافته است.

جدول ۲- وزن مؤلفه‌های چرخش‌یافته‌ی خصوصیات میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک به روش Quartimax برای استخراج سه مؤلفه‌ی اصلی به همراه قابلیت اطمینان یا ضریب اشتراک متغیر (communality)، واریانس توصیفی هر کدام از آنها و همچنین واریانس تجمعی کل داده‌ها

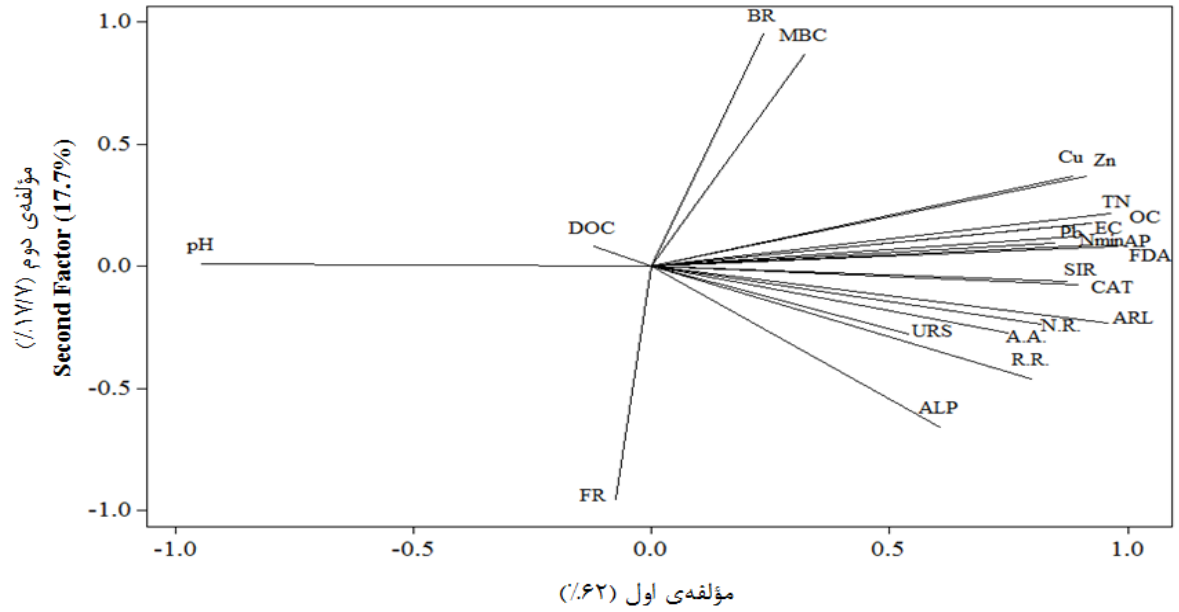
Table 2- Rotated factor loadings of soil microbiological and biochemical properties using Quartimax rotation to extract three principal components (factors) along with their communality, descriptive variance and cumulative variance of total dataset

متغیر Variable	مؤلفه‌ی اول First Factor	مؤلفه‌ی دوم Second Factor	مؤلفه‌ی سوم Third Factor	ضریب اشتراک Communality
FDA	0.978	0	0	0.963
TN	0.963	0	0	0.976
ARL	0.957	0	0	0.976
pH	-0.945	0	0	0.910
AP	0.928	0	0	0.868
OC	0.923	0	0	0.910
EC	0.921	0	0	0.894
Zn	0.911	0	0	0.973
CAT	0.897	0	0	0.809
Pb	0.889	0	0	0.805
Cu	0.883	0	0	0.929
SIR	0.873	0	0	0.775
N_{min}	0.847	0	0	0.894
N.R.	0.818	0	0	0.895
R.R.	0.798	0	0	0.850
A.A	0.750	0	0	0.831
FR	0	-0.951	0	0.915
BR	0	0.951	0	0.958
MBC	0	0.869	0	0.915
DOC	0	0	-0.902	0.835
ALP	0	0	0	0.882
URS	0	0	0	0.811
ارزش ویژه Eigenvalue	13.4	3.90	2.03	-
واریانس یا تغییرات (٪) descriptive variance	62.0	17.7	9.2	-
واریانس یا تغییرات تجمعی (٪) Cumulative variance	62.0	79.7	89.0	-

متغیرها بر اساس وزن مؤلفه از بزرگ به کوچک مرتب شده و تنها وزن مؤلفه‌های بزرگتر از ۰/۷۵ برای تفسیر نتایج استفاده شده‌اند. EC: قابلیت هدایت الکتریکی، pH: واکنش خاک، TN: نیتروژن کل، OC: کربن آلی کل، DOC: کربن آلی محلول، AP: فسفر دردسترس، Cu: مس، Pb: سرب و Zn: روی عصاره‌گیری شده با DTPA-TEA، MBC: کربن زیست‌توده‌ی میکروبی، .R.R: سرعت تنفس، SIR: تنفس ناشی از سوبسترا، FR: تنفس قارچی، BR: تنفس باکتریایی، .N.R: سرعت نیتریفیکاسیون، N_{min}: نیتروژن معدنی، .A.A: آمونیفیکاسیون آرژینین، CAT: فعالیت کاتالاز، URS: فعالیت اوره‌آز، ARL: فعالیت آریل سولفاتاز، ALP: فعالیت آلکالاین فسفاتاز و FDA: هیدرولیز فلورسین دی‌استات

Based on factor loadings, soil variables were arranged from the largest to the smallest values, and only factor loadings greater than 0.75 have been used to interpret the results. EC: electrical conductivity, pH: soil reaction, TN: total nitrogen, OC: total carbon, DOC: dissolved organic carbon, AP: available phosphorus, Cu: copper, Pb: lead and Zn: zinc extracted with DTPA-TEA, MBC: microbial biomass carbon, R.R.: respiration rate, SIR: substrate-induced respiration, FR: fungal respiration, BR: bacterial respiration, N.R.: nitrification rate, N_{min}: mineral N, A.A.: arginine ammonification, CAT: catalase activity, URS: urease activity, ARL: arylsulphatase activity, ALP: alkaline phosphatase activity, and FDA: Fluorescein Diacetate hydrolysis

در جدول ۲، همبستگی متغیرها (بردار ویژه یا وزن مؤلفه) با سه محور اصلی نشان داده شده است. با افزایش شماره‌ی مؤلفه به سمت مؤلفه‌ی سوم از تعداد خصوصیات مهم در مؤلفه کاسته شده به طوری که مؤلفه‌ی اول دارای بیشترین خصوصیات مهم می‌باشد. برای کاهش بیشتر تعداد متغیرها وزن مؤلفه‌هایی مدنظر قرار گرفت که مقدار قدر مطلق آنها بیشتر از ۰/۷۵ باشد (۳۲). علامت مثبت و منفی ضرایب همبستگی (بردار ویژه یا وزن مؤلفه) به ترتیب ارتباط مثبت و منفی متغیر مورد نظر را با محورهای استخراج‌شده نشان می‌دهد. همچنین ضریب اشتراک اغلب متغیرهای خاک در این مطالعه بالا (>۰/۷۷) بود (جدول۲). بنابراین اکثر پارامترهای اندازه گیری شده نقش بسزایی در استخراج مؤلفه های اصلی، تغییرات داده‌های آزمایش و در نتیجه تفکیک اثر تیمارهای لجن و کرم خاکی داشتند.



شکل ۱- مختصات دو بعدی شامل مؤلفه‌های اصلی اول و دوم ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک. برای توضیح مخفف متغیرها به جدول ۲ مراجعه شود

Figure 1- Two-dimensional coordinates showing first and second factors extracted using soil microbiological and biochemical properties. See Table 2 for variable's abbreviations

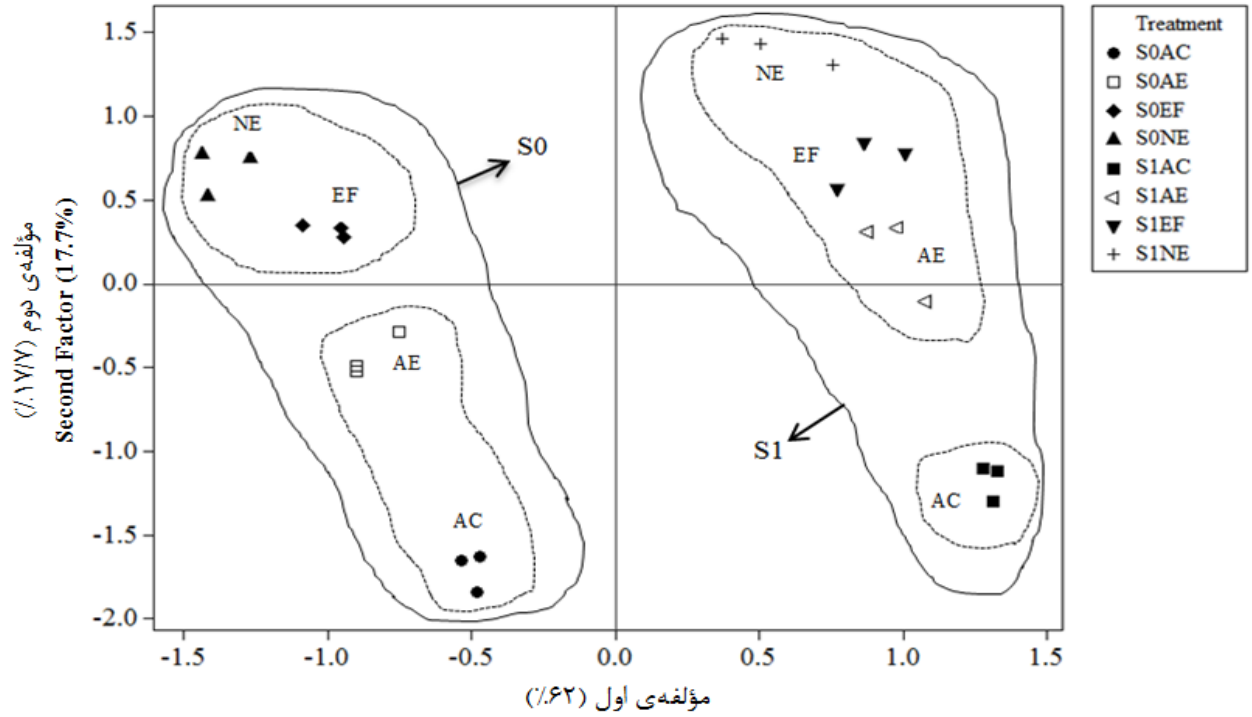
مقادیر ارزش ویژه (Eigenvector) یا وزن مؤلفه‌ی خصوصیات میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی در مختصات دو بعدی شامل مؤلفه‌های اصلی اول و دوم در شکل۱ نشان داده شده است. معمولاً نمودارهای دو بعدی (دوگانه) که شامل مؤلفه‌های اصلی اول و دوم می‌باشند، دربرگیرنده‌ی حداکثر اطلاعات مورد نیاز تحلیل‌گر هستند (۲۸). چنانچه مقدار عددی یک بردار ویژه یا ضریب عامل نزدیک به یک باشد، آنگاه در نمودار دو بعدی، محوری که متغیر اولیه مربوطه را نشان می‌دهد، با زاویه‌ای کم در امتداد مؤلفه‌ی مورد نظر واقع می‌گردد. همچنین اگر این مقدار به صفر نزدیک باشد، محور متغیر اولیه با مؤلفه‌ی مورد نظر تقریباً عمود برهم شده و در نتیجه سهم متغیر در این مؤلفه‌ی اصلی اندک خواهد بود. در این مطالعه، تنها متغیرهایی که بر اثر مصرف لجن فاضلاب یا کرم خاکی تغییرات معنی‌دار نشان دادند (طبق روش آنالیز تک متغیره) در روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مورد استفاده قرار گرفتند. بنابراین با توجه به شکل ۱، اکثر خصوصیات اندازه گیری شده، نسبت به مؤلفه‌ی اصلی اول زاویه‌ی کمی داشته و در نتیجه وزن (Factor loading) برجسته و بالایی در این مؤلفه دارا می‌باشند. علاوه بر این، طول خط هر متغیر (فاصله‌ی آن از مختصات) نیز اهمیت نسبی هر متغیر اولیه را روی یک مؤلفه نشان می‌دهد.

طبق جدول ۲ و شکل ۱، به ترتیب متغیرهای هیدرولیز فلورسین دی‌استات، نیتروژن کل، آریل سولفاتاز، واکنش خاک، فسفر قابل جذب، کربن آلی کل، قابلیت هدایت الکتریکی، کاتالاز، روی ، سرب و مس عصاره‌گیری شده با DTPA-TEA، تنفس ناشی از سوبسترا، نیتروژن معدنی، سرعت نیتریفیکاسیون، سرعت تنفس و

آمونیفیکاسیون آرژینین وزن بیشتری روی مؤلفه‌ی اول داشتند. این مؤلفه به وضوح تیمارهای بدون لجن فاضلاب و دارای لجن فاضلاب را از هم تفکیک نمود (شکل ۲). تمامی این متغیرها به جز pH، دارای بیشترین طول در جهت مثبت (به دلیل علامت مثبت اعداد) و کمترین زاویه نسبت به مؤلفه‌ی اول بودند. بنابراین این متغیرها بر اثر افزودن لجن فاضلاب نسبت به تیمار بدون لجن فاضلاب افزایش یافتند. تنها pH خاک تغییر معکوس نشان داد و بر اثر مصرف لجن کاهش یافت. اثر مثبت لجن فاضلاب بر ویژگی‌های میکروبی خاک به دلیل بالا بودن میزان مواد آلی و عناصر غذایی و همچنین غلظت پایین فلزات سنگین (مس، سرب و روی) در این پسماند آلی بود (جدول ۱). پژوهشگران پیشین نیز نتایج مشابهی را گزارش نموده و اظهار داشتند که با افزودن لجن فاضلاب به خاک فعالیت آنزیمی (۱۵)، سرعت تنفس (۱۹)، تنفس ناشی از سوبسترا (۱۱) و معدنی شدن نیتروژن (۳۳) افزایش یافته و pH خاک کاهش می یابد (۹). در مقابل، متغیرهای تنفس قارچی، تنفس باکتریایی و کربن زیست‌توده‌ی میکروبی وزن بیشتری را روی محور دوم به خود اختصاص دادند که در بین آنها تنفس باکتریایی و کربن زیست‌توده‌ی میکروبی دارای همبستگی مثبت با محور دوم بوده و تنفس قارچی همبستگی منفی با این محور داشت. این محور اثر کرم خاکی را بر ویژگی های اندازه گیری شده به وضوح نشان می دهد و بدین ترتیب تیمارهای کرم خاکی را به وضوح تفکیک نمود (شکل ۲). به طور کلی کرم‌های خاکی می‌توانند با تغذیه‌ی انتخابی خود، ترکیب جامعه‌ی میکروبی و نسبت زیست‌توده‌ی قارچی به باکتریایی را تغییر دهند. تغییر در این نسبت به دلیل کارایی متفاوت قارچ‌ها و باکتری‌ها از منبع کربن خاک، بسیار مهم است. باکتری‌ها نسبت به قارچ‌ها، به ازای هر واحد کربن مصرف شده، میزان CO_2 بیشتری آزاد می‌کنند و بنابراین کارایی مصرف کربن پایینی دارند (۱۷). در حضور کرم خاکی سهم تنفس قارچی نسبت به تنفس باکتریایی در جامه‌ی میکروبی افزایش می‌یابد (۴۳). افزایش این نسبت در حضور کرم خاکی به دلیل تحریک رشد قارچ در فضولات کرم خاکی و تغذیه‌ی انتخابی آنها از باکتری‌ها است (۱).

شکل ۲، نمرات محورها (Component Scores) را نشان می‌دهد. اشکال سمت چپ نمودار مربوط به تیمارهای بدون لجن فاضلاب و اشکال سمت راست نشان‌دهنده‌ی تیمارهای دارای لجن فاضلاب می‌باشند. بنابراین محور اول در تفکیک تیمارهای بدون لجن فاضلاب از تیمارهای دارای لجن فاضلاب نقش بیشتری دارد. با توجه به نقش محور اول در تفکیک شرایط بدون لجن فاضلاب و با لجن فاضلاب می‌توان گفت که محور اول نشان‌دهنده‌ی تأثیر لجن فاضلاب بر ویژگی‌های خاک می‌باشد. افزودن لجن فاضلاب متغیرهای مهم در مؤلفه‌ی اول به جز pH را نسبت به تیمار بدون لجن فاضلاب افزایش داد که روش تک متغیره هم این نتایج را تأیید کرد (داده‌ها گزارش نشده) . در مؤلفه‌ی دوم در شرایط بدون لجن فاضلاب حضور گونه‌ی آیزنیافتیدا اثر کمتری نسبت به تیمار آلولوبوفورا کالیژینوزا و حضور هر دو گونه بر متغیرهای مورد بررسی داشت. به همین دلیل محور دوم گونه‌ی آیزنیافتیدا را به همراه تیمار بدون کرم خاکی از گونه‌ی آلولوبوفورا کالیژینوزا و ترکیب هر دو گونه تفکیک نمود. اما در تیمارهای دارای لجن فاضلاب، تنها تیمار کرم خاکی آلولوبوفورا کالیژینوزا با سایر تیمارها تفاوت داشت.

این نشان می‌دهد که تیمار آیزنیافتیدا و مخلوط دو گونه در حضور لجن فاضلاب تقریباً اثر مشابهی با تیمار لجن فاضلاب و بدون کرم خاکی نشان دادند و بنابراین با افزودن لجن فاضلاب تنها اثر حضور گونه‌ی آلولوبوفورا کالیژینوزا بر خصوصیات بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی خاک محسوس و قابل توجه بود. این نتیجه می‌تواند به دو دلیل باشد. اول اینکه گونه‌ی آیزنیافتیدا در خاکهای با مواد آلی بالا به خوبی رشد می‌نماید، زیرا بقایای آلی در سطح خاک و مواد آلی خاک منبع اصلی برای تغذیه این گونه به شمار می‌آیند (۱۷ و ۴۱). میزان اندک ماده‌ی آلی در خاک مورد مطالعه یکی از عوامل محدودکننده‌ی اثر این گونه‌ی کرم خاکی در شرایط بدون لجن فاضلاب است. دوم اینکه با توجه به تغذیه‌ی گونه‌ی آیزنیافتیدا از مواد آلی، در شرایط مصرف لجن فاضلاب وابستگی این گونه به ریزجانداران به عنوان منبع غذایی کمتر شده ولی گونه‌ی آلولوبوفورا کالیژینوزا علیرغم فراوانی مواد آلی در این شرایط، همچنان به زیست‌توده‌ی میکروبی وابسته می‌باشد. بنابراین گونه‌ی آلولوبوفورا کالیژینوزا به طور غیرمستقیم از اثر مثبت لجن فاضلاب بر زیست‌توده‌ی میکروبی بهره جسته و از آن به عنوان منبع غذایی بهره می‌برد. به عبارت دیگر، از یک طرف ریزجانداران از این پسماند آلی به عنوان منبع اولیه غذایی استفاده کرده و از طرف دیگر زیست‌توده‌ی میکروبی به عنوان منبع ثانویه غذایی برای گونه‌ی اندوژئیک آلولوبوفورا کالیژینوزا افزایش می‌یابد. بدین صورت فعالیت تغذیه‌ای این کرم خاکی افزایش یافته و با تغذیه از زیست‌توده‌ی میکروبی و جوان و فعال نمودن آن، اثر محسوس تری بر خصوصیات میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی در تیمار لجن فاضلاب برجای می‌گذارد. این گونه اغلب در لایه های زیرین خاک زندگی و فعالیت می کند و از بخش معدنی خاک و زیست توده میکروبی تغذیه می‌نماید و بنابراین کمتر به مواد آلی موجود در خاک وابسته است (۴۳).



شکل ۲- دیاگرام دو بعدی مؤلفه‌های اصلی اول و دوم تفکیک کننده‌ی تیمارها بر اساس ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک

S0NE: بدون لجن فاضلاب و بدون کرم خاکی، S0EF: بدون لجن فاضلاب و دارای آیزنیافتیدا، S0AC: بدون لجن فاضلاب و دارای آلولوبوفورا کالیژینوزا، S0AE: بدون لجن فاضلاب و دارای دو گونه. S1NE: دارای لجن فاضلاب و بدون کرم خاکی، S1EF: دارای لجن فاضلاب و آیزنیافتیدا، S1AC: دارای لجن فاضلاب و آلولوبوفورا کالیژینوزا، S1AE: دارای لجن فاضلاب و دو گونه. S0: تیمارهای بدون لجن فاضلاب، S1: تیمارهای دارای لجن فاضلاب. NE: بدون کرم خاکی و E: دارای کرم خاکی

Figure 2- Biplot diagram of first and second factors separating treatments based on soil microbiological and biochemical properties

S0NE: without sewage sludge and earthworm, S0EF: without sewage sludge and with *E. foetida*, S0AC: without sewage sludge and with *A.caliginosa*, S0AE: without sewage sludge and with the two species, S1NE: with sewage sludge and earthworm, S1EF: with sewage sludge and *E. foetida*, S1AC: with sewage sludge and *A.caliginosa*, S1AE: with sewage sludge and the two species. S0: sewage sludge treatments, S1: non sewage sludge treatments. NE: non earthworm and E: earthworm treatments

نتیجه‌گیری کلی

روش چند متغیره‌ی تجزیه‌ی عامل اثر کاربرد لجن فاضلاب و کرم خاکی به تنهایی یا همزمان را به سهولت تفکیک و جدا نمود. نتایج تجزیه‌ی عامل نشان داد که افزودن لجن فاضلاب شهری به خاک مورد مطالعه، منجر به بهبود ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک می‌شود. این تأثیر مثبت به دلیل ویژگی‌های کیفی مطلوب این پسماند آلی بود. از طرف دیگر تلقیح کرم خاکی نیز شرایط میکروبیولوژیکی خاک‌های تیمار نشده و تیمار شده با لجن فاضلاب را بهبود بخشید، هر چند تلقیح گونه‌ی آلولوبوفورا کالیژینوزا در مقایسه با گونه‌ی آیزنیافتیدا بر بهبود این شرایط مؤثرتر بود. این تفاوت به دلیل تغذیه‌ی انتخابی گونه‌ی آلولوبوفورا کالیژینوزا و عدم وابستگی آن به ماده آلی افزوده به خاک می‌باشد.

سپاسگزاری: بدین وسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه شهرکرد جهت انجام این پژوهش تقدیر به عمل می‌آید. همچنین از سرکار خانم مهندس پژمان به خاطر حمایت‌های بی‌دریغشان قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Aira M., and Dominguez J. 2009. Microbial and nutrient stabilization of two animal manures after the transit through the gut of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny, 1826). Journal of Hazardous Materials, 161: 1234-1238.
2. Alef K., and Kleiner D. 1987. Applicability of arginine ammonification as an indicator of microbial activity in different soils. Biology and Fertility of Soils, 5: 148-151.

3. Alef K., and Nannipieri P. 1995. Enzyme activities. p. 311-373. In K. Alef and P. Nannipieri (ed.) Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press, New York.
4. Amlinger F., Pollak M., and Favoino E. 2004. Heavy metals and organic compounds from wastes used as organic fertilizers. European Union, ANNEX2-Compost quality definition, legislation and standards.
5. Ananyeva N.D., Susyan E.A., Chernova O.V., Chernove I.Y., and Makarova O.L. 2006. The ratio of fungi and bacteria in the biomass of different types of soil determined by selective inhibition. Microbiologiya, 6: 807-813.
6. Anderson J.P.E. 1982. Soil respiration. p. 831–871. In A.L. Page and Miller R.H. (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. ASA, Madison, WI.
7. Andrews S.S., Karlen D.L., and Mitchell J.P., 2002. A comparison of soil quality indexing methods for vegetable production systems in northern California. Agricultural, Ecosystem and Environment, 90: 25-45.
8. Bartholomew D.J., Steele F., Moustaki I., and Galbraith J. 2008. Analysis of Multivariate Social Science Data. Chapman and hall, London, UK.
9. Bergkvist P., Jarvis N., Berggren D., and Carlgren K. 2003. Long-term effects of sewage sludge application availability and distribution in arable soil. Agriculture, Ecosystems and Environment, 97: 167-179.
10. Birkhofer K., Bezemer T.M., Bloem J., Bonkowski M., Christensen S., Dobius D., Ekelund F., Fliebach A., Gunst L., Hedlund K., Mader P., Mikola J., Robin C., Setala H., Tatin-Froex F., Van der Putten W.H., and Scheu S. 2008. Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: implications for soil quality, biological control and productivity. Soil Biology and Biochemistry, 43: 2297-2308.
11. Blagodatskaya E., and Kuzyakov Y. 2013. Active microorganisms in soil: critical review of estimation criteria and approaches. Soil Biology and Biochemistry, 67: 192-211.
12. Bremner J.M. 1996. Nitrogen total. p. 1085-1121. In D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical methods. SSSA, Madison, WI.
13. Corre M.D., Schnabel R.R., and Shaffer J.A. 1999. Evaluation of soil organic carbon under forests, cool-season and warm-season grasses in the northeastern US. Soil Biology and Biochemistry, 31: 1531-1539.
14. Degens B.P., Schipper L.A., Sparling G.P., and Ducan L.C. 2001. Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance? Soil Biology and Biochemistry, 33: 1143-1153.
15. Dindar E., Sagban F.O.T., Alkan U., and Baskaya H.S. 2013. Effects of canned food industry sludge amendment on enzyme activities in soil with earthworms. Environmental Engineering and Management Journal, 12: 2407-2416.
16. Du Y.L., He M.M., Xu M., Yan Z.G., Zhou Y.Y., Guo G.L., Nie J., Wang L.Q., Hou H., and Li F.S. 2014. Interactive effects between earthworms and maize plants on the accumulation and toxicity of soil cadmium. Soil Biology and Biochemistry, 72: 193-202.
17. Edwards C.A., and Bohlen P.J. 1996. Biology and Ecology of Earthworms. Chapman and hall, London, UK.
18. Fernandez J.M., Plaza C., Garcia-Gil J.C., and Polo A. 2009. Biochemical properties and barley yield in a semiarid Mediterranean soil amended with two kinds of sewage sludge. Applied Soil Ecology, 42: 18-24.
19. Fernandez S.A.P., Bettiol W., and Cerri C.C. 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. Applied Soil Ecology, 30: 65-77.
20. Garcia-Ruiz R., Ochoa V., Hinojosa M.B., and Carreira J.A. 2008. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. Soil Biology and Biochemistry, 40: 2137-2145.
21. Hong H.N., Rumpel C., Tureaux T.H.D., Bardoux G., Billou D., Duc T.T., and jouquet P. 2011. How do earthworms influence organic matter quantity and quality in tropical soils? Soil Biology and Biochemistry, 43: 223-230.
22. Horwath W.R., and Paul E.A. 1994. Microbial biomass. pp. 753-775. In D.R. Buxton (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties. ASA, Madison, WI.
23. Karami M., Afyuni M., Rezainejad Y., and Schulin R. 2009. Heavy metal uptake by wheat from a sewage sludge-amended calcareous soil. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 83:51-61.
24. Landi L., Renella g., Moreno J.L., Falchini L., and Nannipieri P. 2000. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L-:D- glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial biomass ratio under laboratory conditions. Biology and Fertility of Soils, 32: 8-16.
25. Lindsay W.L., and Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. Soil Science Society of America Journal, 42:421-428.
26. Liu J., Xie J., Chu Y., Sun C., Chen C., and Wang Q. 2008. Combined effect of cypermethrin and copper on catalase activity in soil. Journal of Soils and Sediments, 8: 327-332.
27. Mench M., Renella G., Gelsomino A., Landi L., and Nannipieri P. 2006. Biochemical parameters and by sludge-borne metals and remediated with inorganic soil amendments. Environmental Pollution, 144: 24-31.
28. Mohammadi J. 2006. Pedometry: Classical statistics. Pelk Publisher, Tehran. (in Persian)
29. Nannipieri P., Ascher J., Cecchrini M.J., Landi L., Pietramellara G., and Renella G. 2003. Microbial diversity and soil functions. European Journal of Soil Science, 54: 655-670.

30. Nelson D.W., and Sommers L.E. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. p. 961-1011. In D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical methods. ASA, Madison, WI.
31. Olsen S.R., and Sommers L.E. 1982. Phosphorus. p. 403-430. In A.L. Page et al. (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. ASA, Madison, WI.
32. Ovalles F.A., and Collins M.E. 1988. Variability of northwest Florida soils by principal component analysis. Soil Science Society of America Journal, 52: 1430-1435.
33. Pang J.Z., Qiao Y.H., Sun Z.J., Zhang S.X., Li Y.L., and Zhang R.Q. 2012. Effects of epigeic earthworms on decomposition of wheat straw and nutrient cycling in agricultural soils in a reclaimed salinity area: a microcosm study. Pedosphere, 22: 726-735.
34. Rhodes J.D. 1996. Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. p. 417-435. In D.L. Sparks (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical properties. SSSA, Madison, WI.
35. Sharma S. 1996. Applied Multivariate Techniques. John Wiley & Sons, New York.
36. Shirani H., Hajabbasi M.A., Afyuni M., and Hemmat A. 2002. Effect of farmyard and tillage systems on soil physical properties and corn yield in central Iran. Soil and Tillage Research, 68: 101-108.
37. Sposito G., Lund J.L., and Chang A.C. 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 Science Society of America Journal, 46: 260-264.
38. Tahmasebi P. 2011. Multivariate analysis in environmental science and natural resources. Shahrekord University publisher. (in Persian)
39. Tejada M. 2009. Application of different organic wastes in a soil polluted by cadmium: effects on soil biological properties. Geoderma, 153: 254-268.
40. Thomas. G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. p. 475-483. In D.L. Sparks (ed.), Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical properties. SSSA and ASA, Madison, WI.
41. Xing M., Yang j., Wang Y., Liu J., and Yu F. 2011. A comparative study of synchronous treatment of sewage and sludge by two vermifiltrations using an epigeic earthworm *Eisenia fetida*. Journal of Hazardous Material, 185: 881-888.
42. Zarei V., and Sheklabadi M. 2015. Assessing soil quality in different land uses using multivariate analysis. Science and Technology of agriculture and natural resources, Water and Soil Science, 70: 101-110. (in Persian with English abstract)
43. Zhang B. Li G., Shen T., Wang J., and Sun Z. 2000. Changes in microbial biomass C, N and P and enzyme activities in soil incubated with the earthworms *Metaphire guillelmi* or *Eisenia fetida*. Soil Biology and Biochemistry, 32: 2055-2062.

Journal of Water and Soil
Vol. 31, No. 1, Mar.-Apr. 2017, p. 168-178

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۱، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۹۶، ص. ۱۷۸-۱۶۸

Assessing Earthworm and Municipal Sewage Sludge Impacts on Microbiological and Biochemical Soil Quality Using Multivariate Analysis

H. Jafari Vafa[1*] – F. Raiesi[2]

Received: 07-10-2015
Accepted: 27-02-2016

Introduction: Land application of organic wastes and biosolids such as municipal sewage sludge has been an important and attractive practice for improving different properties of agricultural soils with low organic matter content in semi-arid regions, due to an increase of soil organic matter level and fertility. However, application of this organic waste may directly or indirectly affect soil bio-indicators such as microbial and enzymatic activities through a change in the activity of other soil organisms such as earthworms. Earthworms are the most important soil saprophagous fauna and much of the faunal biomass is attributed to the presence of these organisms in the soil**.** Therefore, it is crucial to evaluate the effect of earthworm activity on soil microbial and biochemical attributes, in particularly when soils are amended with urban sewage sludge. The purpose of this study was to evaluate the earthworm effects on biochemical and microbiological properties of a calcareous soil amended with municipal sewage sludge using Factor Analysis (FA).

Materials and Methods: In the present study, the experimental treatments were sewage sludge (without and with 1.5% sewage sludge) as the first factor and earthworm (no earthworm, *Eiseniafoetida* from epigeic group, *Allolobophracaliginosa* from endogeic group and a mixture of the two species) as the second factor. The study was setup as 2×4 full factorial experiment arranged in a completely randomized design with three replications for each treatment under greenhouse conditions over 90 days. A calcareous soil from the 0-30 cm layer with clay loam texture was obtained from a farmland field under fallow without cultivation history for ten years**.** The soil was air-dried and passed through a 2-mm sieve for the experiment. Sewage sludge as the soil organic amendment was collected from Wastewater Treatment Plant in Shahrekord. Sewage sludge was air-dried and grounded to pass through a 1-mm sieve for a uniform mixture with soil matrix.Heavy metals concentrations were found to be below the maximum permissible limits for municipal sewage sludge. After applying sewage sludge treatments, the pots were irrigated (70% soil field capacity) for three months to achieve a relative equilibrium condition in the soil. Eight adult earthworms with fully-developed clitellum were added to each pot. In the pots with both earthworm species, 4 specimen of each earthworm species was added. At the end of the experiment (90 days), soil samples were collected from treatments and were separately air-dried for chemical analysis or kept fresh and stored (4^{o}C) for microbial analysis. Finally, data obtained from the study were analyzed using multivariate analysis.

Results and Discussion: Factor analysis led to the selection of three factors with eigen value greater than 1. The first, second and third factors were accounted for 62, 17.7 and 9.2% of the variability in soil data, respectively. The three factors together explained 89% of the original variability (i.e., variance) in the soil dataset. Consequently, three factors were retained to represent the original variability of the dataset. The first factor had 16 highly weighted variables with a negative loading for soil pH and positive loadings for other variables. The first factor, which included most soil indicators as input variables, clearly separated sewage sludge treatments. Most of the soil microbial characteristics were increased by sewage sludge application due to the high contents of organic matter and nutrients in sewage sludge, as well as low concentrations of heavy metals. Fungal respiration, bacterial respiration and microbial biomass carbon loaded heavily on the second factor with a negative loading for fungal respiration and positive loadings for bacterial respiration and microbial biomass carbon. The second factor, which included microbial biomass and community composition, noticeably discriminated earthworm treatments. In sewage sludge treatments, the dependence of *E. foetida*species on soil microorganisms as a food source declined, because of the consumption of organic waste by this epigeic species. However, the activity and impact of *A. caliginosa* species from endogeic group was only related to soil microbial biomass probably due to selective feeding of soil microorganisms.

Conclusion: Factor analysis was used successfully in discriminating the effects of sewage sludge and earthworm either alone or in combination on soil microbial and biochemical parameters. *A. caliginosa* species in

1- Former Graduate Student and Professor, Faculty of Agriculture, Shahrekord University
(*- Corresponding Author Email: hjafarivafa@gmail.com)

soils amended with sewage sludge had a positive effect on microbial community and biomass, while *E. foetida*species had no such effect. *A. caliginosa* species indirectly benefited from sewage sludge application following the increase of soil microbial biomass. In summary, *A. caliginosa* species positively affected microbiological and biochemical properties in soils amended with sewage sludge due to its less dependence on this organic resource.

Keywords: Earthworm, Factor analysis, Municipal sewage sludge, Soil quality