

Разпознаване и прогнозиране на почвена микробиологична активност по косвени признаци

Мария Консулова*, Павлина Наскова*, Драгомир Пламенов*, Бойка Малчева**

**Технически университет Варна*

***Лесотехнически университет – София*

Email: pnaskova@abv.bg

Резюме

В статията е описан модел за разпознаване и прогнозиране на почвена микробиологична активност по косвени признаци, като са разгледани четири фактори влияещи активно върху микробната биогенност. Моделът е съставен и обучен на база анализи направени в урбогенни почви през месец юни. Получените данни показват добра валидност на модела за месец септември при конкретните фактори и получени лабораторни резултати. Поради промяна във влажността и температурата на почвата и натрупването на допълнително органично вещество в края на вегетационния период моделът не дава добри резултати за месец ноември.

Ключови думи: агроекосистема, почвена микрофлора, екологични фактори, математическо разпознаване

Recognition and probability of migrant microbiological activity by indirect signature

Maria Konsulova*, Pavlina Naskova*, Dragomir Plamenov*, Boyka Malcheva**

**Technical University, 9000 Varna, Studentska 1 str.*

***University of Forestry, Kliment Ohridski Street 10, Sofia 1756*

Email: pnaskova@abv.bg

Abstract

The article describes a model for the recognition and prognosis of soil microbiological activity by indirect signs, and four factors are actively influenced on microbial biogenicity. The model was developed and trained on the basis of analyzes made in urban soils in June. The data obtained show a good validity of the model for the month of September for the specific factors and obtained laboratory results. Because of the change in soil moisture and temperature and the accumulation of additional organic substance at the end of the vegetation period, the model did not perform well for November.

Key words: agroecosystem, soil microflora, ecological factors, mathematical recognition

Почвата е среда за растеж и развитие на почвената микрофлора. Това се дължи на факта, че тя осигурява няколко биологични функции като трансформира, съхранява и циклизира енергийно богати органични съединения (Torgstensson 1997). Почвената микробна биомаса определя най-важните биологични свойства на почвата, а те от своя страна определят почвената фертилност и потенциала за добив на култури (Kucharski et al., 2006; Wyzkowska et al., 2007). Количественото ѝ определяне е важно за описване на оборота на биомаса в различни екосистеми. Днес се използват няколко метода за изучаване на активността на почвените микроорганизми, които са функция на числеността им. Определянето на микробиологичната активност става на базата на дихателната активност на почвата или чрез определяне на активността на специфични ензими (Adam et al., 2001; Machulla 2003; Alef et al., 1995; McLaughlin et al., 1986; Friedel et al., 1994), но най-точен метод е определянето на числеността на микрофлората. Активността зависи от много фактори, като гранулометричния състав на почвата, количеството и качеството на органичната материя, рН, общ обменен капацитет, наличност на хранителни вещества, влага, температура и наличие на кислород (Hattori 1992; Das et al., 1997; Dick 1992.) Недостатък е, че всички методи изискват да се проведат многобройни повторения. Въпреки, че химията на органичните материали, общата микробна биомаса и различните ензимни активности в почвата са сравнително добре проучени, има малко информация за структурата на микробните популации в микрохабитатите по дълбочина на почвения профил. С цел попълване на тези празноти в конкретната научна ниша се използват конвенционални полу-подробни и подробни проучвания на почвата като средство за предоставяне на базова информация, но те са отнемачи време и скъпо струващи. Процесът на моделиране на микробиологичната активност на почвите, следван от това проучване, се основава на комбинация от отношения, получени от статистически анализ на определените места за наблюдение и изследване на микробната

активност на почвата в различните почвени хоризонти, както и експертни познания за тези връзки. Тези аспекти са използвани за оптимизиране на процесите на пространствено моделиране на микробиотата в дълбочина на почвата и интегриране на получените данни.

В предишни наши трудове сме създали математически модел за определяне на степента на влияние на различни физико-химични фактори върху числеността на общата микрофлора в антропогенни почви. Занимавали сме се с комбиниране на статистически критерии при определяне на числеността на почвената микрофлора. Целата ни в случая е да потвърдим или отречем резултатите от оценката на полезността на признаците след провеждането на конкретни разпознаващи процедури върху определени експериментални данни.

Материали и методи

Пробите са взети през месец юни 2008 г. Заложени са 7 пробни площадки (ПП), като три от тях се намират в жк. Дружба. Анализирани са урбогенни почви в индустриалната зона на жилищния комплекс. Останалите четири пробни площи са разположени по Цариградско шосе в гр. София на различно отстояние от центъра („Орлов мост“) към изхода на града, в странични ивици на 50 cm от булеварда.

Пробовземане

Пробите за анализ са вземани със стерилен нож от съответните дълбочини (0-15 cm и 15-40 cm), средна проба от три места, в стерилен хартиен плик. Пробите (около 1000 g) са транспортирани и изследвани най-късно до 48 часа, като до момента на посаявката са съхранявани в хладилник при 4-10°C.

Почвени анализи

- общата форма на оловото в почвата е определено чрез атомно-абсорбционен спектрофотометър „Perkin-Elmer“

- влажността на почвата е определена на терен с влагомер модел Sv 218 и в лаборатория по термостатен метод

Определянето на влажността на почвата на терен е бърз метод, при който най-пълно се запазват естествените условия, което е важно условие при отчитането на общата микрофлора в почвата. Същият показател е отчетен и в лабораторни условия, тъй като това е необходимо за привеждане резултатите от количествените отчитания на микроорганизмите към 1g абсолютно суха почва.

- температурата на почвата е измерена с температурна сонда модел Sv 218.

Теренното измерване на среднодневните температури на почвата е извършвано едновременно с взимане на почвени проби за микробиологичен анализ.

Микробиологични анализи

Общата численост на микрофлората е определена по метода на разреждане и посевка на твърди хранителни среди (МПА, САА и Чапек-Докс агар), култивиране в термостат и следващо отчитане на колониеобразуващи единици (КОЕ), преизчислени за 1g абс. суха почва.

Теоретична постановка

В настоящата разработка се разглежда задачата за разпознаване на количеството микрофлора (Недев и др. 1995) по косвени признаци – дълбочина на вземане на пробата, влажност, температура на почвата и съдържание на олово. В предходни разработки на (Недев и др. 1995) е направен анализ на диагностичната ценност на посочените признаци и е установено, че дълбочината на вземане на пробата и температурата на почвата са факторите с най-голяма значимост на база предложения критерий. От гледната точка на алгоритмите за диагностика и разпознаване, задачата се свежда до причисляване на данните към един от предварително формулирани два класа на състояние при два или повече признака за разпознаване.

Процесът на разпознаване винаги се предшества от процес на обучение, по време на който обучаваният (човек или алгоритъм), трябва

да се запознае с определен брой изображения (състояния), с известни принадлежности към предварително формулираните образи (класове). Този процес е известен като “обучение с учител”, за разлика от т.нар. обучение без учител или самообучение, при което обучаващият се сам формира и използва критериите за сходство или различие между образите (Недев и др. 1995).

Методите и алгоритмите за разпознаване се разделят на две групи – статистически и детерминирани. При първите се въвежда някаква мярка за правдоподобие $L(X_1, X_2, \dots, X_c)$, след което се търсят стойностите на параметъра на състояние α_i , които я оптимизират. Уравнението:

$$\frac{\partial [L((X_1, X_2, \dots, X_c)/\alpha_j, P, c)]}{\partial \alpha_j} = 0 \quad (1)$$

изразява условията за оптимално обучение, а степента на познаване на P – разпределение на признака и C – матрица на загубите определя точния вид на алгоритъма. След определяне на разделящата функция:

$$L(X, \alpha, P, c) \quad (2)$$

може да бъде прието класифициращо решение, съгласно правилото:

$$X \in w_j, \text{ ако } L(X, \alpha, P, c/w_j) > L(X, \alpha, P, c/w_i) \\ \text{при } i \neq j; i = 1 \div c$$

Определят се разпределенията на признаците или техните параметри по класове, с последващо получаване на конкретния вид на функцията на правдоподобие.

При детерминистичния подход, предварително се приема видът на разделящата функция и критерият за точност, а процесът на обучение се свежда до възстановяване на коефициентите ѝ чрез показване на наблюдения с известна класификация.

При разпознаването на количеството микрофлора извадката от данни е нееднородна или с други думи, се състои от няколко групи наблюдения с различни вероятностни характеристики. Подходящо е да използваме дискриминантен анализ – процедура от многомерния анализ на данни, базирана на вероятностен модел. Другото название на процедури от този тип е класификация или разпознаване на образи.

В първата си част, фазата на обучението, процедурата на дискриминантния анализ обработва тази информация от т.нар. обучаваща извадка, с цел да я кондензира в т.нар. решаващи правила (Недев и др. 1995). Когато те са получени, естествено е да бъдат изпробвани върху обектите от обучаващата извадка или върху други обекти от известен клас.

При положение, че тези обекти (или поне голяма част от тях) бъдат класифицирани правилно, можем да очакваме, че разпознаващите правила са добри и коректно ще работят и за обекти от неизвестен клас. Най-разпространената процедура от този вид е стъпков линеен дискриминантен анализ. Едно от предимствата ѝ е, че дава прости решаващи правила.

Основна цел на дискриминантния анализ е да се получи правило за причисляване на едно ново наблюдение към даден клас. За това наблюдение може да съществува априорна информация за неговата принадлежност към класовете. Ако обаче липсва, априорните вероятности на класовете се приемат за равни.

Изборът на априорни вероятности фиксира оптимални дискриминантни функции и класифициращи правила. Не е удобно обаче, за всяко ново наблюдение да се въвеждат априорни вероятности. Това е свързано и със значителни изчислителни трудности, а ако задачата се решава в реално време трудно можем да предложим априорна информация.

Основната идея при вероятностно статистическите методи е да се освободи правилото за приемане на решение от всички елементи с априорен характер, които могат да бъдат предварително пресметнати и включени в т.нар. прагови и гранични стойности между и около класовете на състояние. Така се постига

унифициране на процедурите за разпознаване като всички особености на стратегията се прехвърлят в процеса на обучение.

При наличието на пълна априорна информация, понятието “оптималност на класификацията” се свързва с решения минимизиращи средния риск (Недев и др. 1995):

$$R(a_i / X) = \sum_{j=1}^c c_{ij} P(w_j / X) = \sum_{j=1}^c c_{ij} \frac{P(w_j)P(X / w_j)}{P(X)} = \min \quad (3)$$

където:

- c_{ij} – елементи на матрицата на загубите;
- $P(X/w_j)$ – условни плътности на разпределенията на X по класове;
- α_i / X – причисляване на X към клас w_i ;

За клас i при премахване на несъщественния на класификацията член в знаменателя получаваме:

$$R(a_i / X) = \sum_{j=1}^c c_{ij} P(w_j) P(X / w_j) = \sum_{j=1}^c c(a_i / w_j) P(w_j / X) + c(a_i / w_i) P(w_i / X) = \min \quad (4)$$

При симетрична рискова матрица получаваме:

$$R(a_i / X) = \sum_{j=1}^c c(a_i / w_j) P(w_j / X) + c(a_i / w_i) P(w_i / X) = \sum_{j=1}^c P(w_j / X) = 1 - P(w_i / X) = \min \quad (5)$$

Приема се онзи клас, чиято апостериорна вероятност, пресметната по Бейс е максимална. Това се отнася към т.нар. Бейсовски стратегии., основаващи се на максимализиране на разделящите функции. Разделящите функции могат да имат различен вид в зависимост от конкретното приложение. Един от възможните варианти е:

$$g_i^{VI}(X) = \ln P(X / w_i) + \ln P(w_i) + \ln |c_i| = \max \quad (6)$$

При предположение за нормално разпределение на признаците можем да получим решаващо правило, свеждащо се до минимизация на квадратичното Махаланобисово разстояние:

$$r_i^2 = (X - \mathfrak{m})^T \sum_i^{-1} (X - \mathfrak{m}) \Rightarrow \min \quad (7)$$

Наблюдението се отнася до този клас на състояние, до който е най-близко разположено в махаланобисов смисъл след мащабиране на областите. Уравнение (7) определя основната изчислителна процедура, а априорните вероятности и компонентите на функцията на риска се отразяват върху стойностите на свободния член в уравнението на разделящата функция (Недев и др. 1995).

След заместване на израза за нормална плътност на разпределение в разделящата функция (3.39), която се формира при наличието на пълна априорна информация, получаваме:

$$g_i(X) = -\frac{1}{2}(X - \mathfrak{m})^T \sum_i^{-1} (X - \mathfrak{m}) - \frac{d}{2} \ln(2\pi) - \frac{1}{2} \ln |\sum_i| + \ln P(w_i) + \ln |c_i| = \max \quad (8)$$

След пренебрегване на несъществените за класификацията членове, се получава разделяща функция от вида:

$$g_i(X) = -\frac{1}{2} X^T \sum_i^{-1} X + (\sum_i^{-1} \mathfrak{m})^T X - \frac{1}{2} \mathfrak{m}^T \sum_i^{-1} \mathfrak{m} - \frac{1}{2} \ln |\sum_i| + \ln P(w_i) + \ln |c_i| = X^T A_i X + a_i^T X + a_{i0} = \max \quad (9)$$

$$A_i = -\frac{1}{2} \sum_i^{-1}, \quad a_i = \sum_i^{-1} \mathfrak{m}, \quad a_{i0} = -\frac{1}{2} \mathfrak{m}^T \sum_i^{-1} \mathfrak{m} - \frac{1}{2} \ln |\sum_i| + \ln P(w_i) + \ln |c_i| \quad (10)$$

Първите два члена на уравнението изразяват квадратичното махаланобисово разстояние, а свободния член отразява особеностите на стратегията. В случай, че се прави класификация с цел оценка (разпознаване) на състоянието, без да се анализира влиянието на матрицата на загубите, случаят се отнася към Бейсовата стратегия – максимум на апостериорните вероятност. Ако освен матрицата на загубите не се отчитат или липсва информация за вероятностите за правилна и погрешна класификация, в общия алгоритъм отпадат последните два члена, които формират коефициента a_0 . Този случай се свежда до известната в теорията схема за класификация по метода на максималното правдоподобие.

От казаното до тук става ясно, че разпознаващият алгоритъм се свежда до:

- пресмятане на стойността на квадратичната форма $X^T A_i X + a_i^T X$ за всеки клас на състояние;
- прибавяне на така пресметнатите оценки към предварително определени константи (прагови стойности);
- сравняване на оценките и класифициране на наблюдението към класа, за който е получена максимална стойност на разделящата функция.

В общия случай класификацията на състоянието при минимизация на критерия на минималния риск се описва:

$$\bar{y}_i \in X_i, \quad \hat{a} \hat{e} i \quad -g_j(\bar{y}) = -\frac{1}{2} y^T \sum_j y + (\sum_j^{-1} \mathfrak{m}_j)^T y - \frac{1}{2} \mathfrak{m}_j^T \sum_j^{-1} \mathfrak{m}_j - \frac{1}{2} \ln |\sum_j| + \ln P(x_j) + \ln |c_j| = Y^T A_j Y + a_j^T Y + a_{j0} \Rightarrow \max \quad (11)$$

При два класа на състояние и различни ковариационни матрици, както е в нашия случай, класификацията се извършва по максималната стойност на функциите на принадлежност:

$$g_1 = -\frac{1}{2} \bar{X} V_1^{-1} X + (V_1^{-1} \mathfrak{m}_1)^T \bar{X} - \frac{1}{2} \mathfrak{m}_1^T V_1^{-1} \mathfrak{m}_1 - \frac{1}{2} \ln |V_1|$$

$$g_2 = -\frac{1}{2} \bar{X} V_2^{-1} X + (V_2^{-1} \mathfrak{m}_2)^T \bar{X} - \frac{1}{2} \mathfrak{m}_2^T V_2^{-1} \mathfrak{m}_2 - \frac{1}{2} \ln |V_2| \quad (12)$$

$$x \in \text{клас}_k \text{ ако } g_k \Rightarrow \max$$

Апостериорната оценка на ефективността на диагностичните процедури се осъществява по резултатите от разпознаване на контролни извадки с известна принадлежност.

Въвеждането на разделящи функции, дава възможност за пресмятане на апостериорните вероятности за всяка хипотеза. След логаритмуване на

$$P(w_i / X) = \frac{P(w_i)P(X / w_i)}{P(X)} \quad (13)$$

получаваме:

$$\ln P(w_i / X) = r_i(X) + B \quad (14)$$

където $r_i(X)$ – зависеща от i съставяща на разделящата функция, изразяваща разстоянието в избраната метрика. Предполага се, че е пресметната променливата част за всяко i и на тази основа търсим израз за апостериорната вероятност. След антилогаритмуване на (13), получаваме:

$$P(w_i / X) = \exp[r_i(X) + B] \quad (15)$$

Като се има предвид, че

$$\sum_{i=1}^c P(w_i / X) = \sum_{i=1}^c \exp[r_i(X) + B] = \sum_{i=1}^c \exp[r_i(X)] \exp B = 1 \quad (16)$$

$$\text{получаваме: } \exp B = \frac{1}{\sum_{i=1}^c e^{r_i(X)}} \quad (17)$$

След логаритмуване се получава:

$$B = -\ln \left(\sum_{i=1}^c e^{r_i(X)} \right) \quad (18)$$

Заместваме (18) (3.77) в (15) (3.74):

$$P(w_i / X) = \exp[r_i(X)] \cdot \exp \left\{ -\ln \sum_{i=1}^c e^{r_i(X)} \right\} = \exp[r_i(X)] \cdot \left\{ \sum_{i=1}^c e^{r_i(X)} \right\}^{-1} \quad (19)$$

или окончателно:

$$P(w_i / X) = \frac{e^{r_i(X)}}{\sum_{i=1}^c e^{r_i(X)}} \quad (20)$$

Уравнение (20) служи за количествена оценка за достоверността на разпознаването и реализира в завършен вид общия алгоритъм за разпознаване по минимален риск. То е единствената възможност за сравняване на качеството на разпознаване при задачи с различни размерности.

За да може да се оцени качеството на разпознаващия алгоритъм е подходящо резултатите от разпознаване да се поместят в т.нар. таблици на изходите. За два класа на състояние, колкото имаме в случая, таблицата има вида:

Таблица 1. Таблица на изходите
Table 1. Table of outcomes

		Разпознаване	
		I клас	II клас
Състояние	I клас	P1	Q12
	II клас	Q21	P2

В таблицата използваме означенията:

$P_i (i=1-4)$ – апостериорни оценки на честотата (вероятността) за правилна класификация. Могат да се изчислят по формула (20).

$Q_{ij} (i,j=1-4; i \neq j)$ – апостериорни оценки на честотата (вероятността) за допускане на грешки

вследствие на неправилна класификация.

Резултати

Проведени са процедури по обучение и разпознаване с различен брой признаци: по четири признака (x_1 – дълбочина на вземане на пробата, x_2 – влажност на почвата, x_3 – температура на почвата, x_4 – съдържание на олово), по три признака и по два признака, като в последните случаи се разглеждат всички възможни комбинации между признаците. По-долу може да се види таблицата на изходите за различните варианти.

При анализирането на резултатите, представени в обобщената таблица изхождаме от двете цели, които сме си поставили:

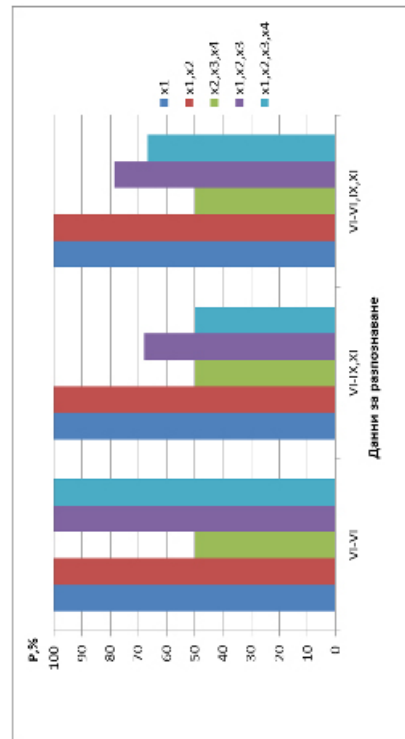
1. Да определим косвените признаци за разпознаване на класа на състояние (количество микрофлора) и да подберем най-добрите от тях.

2. Да установим възможностите за прогнозиране на количеството микрофлора с различни комбинации от признаци за период от три до шест месеца по предварително обучен алгоритъм.

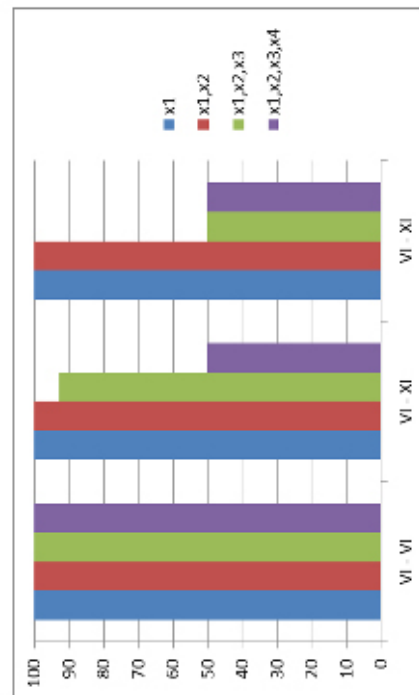
На фиг. 1 и фиг. 2 са представени средните вероятности от разпознаването на двата класа на състояние, което предполага, че при отказ от разпознаване се получават най-ниските стойности от 50%, а при пълно разпознаване – 100%.

Най-добро разпознаване дават комбинациите от два или три признака (x_1, x_2, x_3 и x_1, x_2) с участието на x_1 – дълбочина на вземане на пробата.

На фиг. 2 може да се видят данните за прогнозиране на количеството микрофлора за месеци юни, септември и ноември. Резултатите показват недобро разпознаване на количеството микрофлора за месец ноември. Там правилно разпознатите данни са 50% по три и четири признака.



Фигура 1. Оценка на признаците за разпознаване.
Figure 1. Assessment of recognition features.



Фигура 2. Прогнозиране по-добрите комбинации от признаци
Figure 2. Forecasting better combinations of signs

Таблица 2. Таблица на изходите за различни варианти
Table 2. Table of outcomes for different variants

Комбинация от признаци	Класове	Разпознаване									
		с обучаваща извадка		с данни от месец септември		с данни от месец ноември		Общо		Общос обучаващата	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
x_1, x_2, x_3, x_4	1	100	0	0	100	0	100	0	100	33,33	66,67
	2	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
x_1, x_2, x_3	1	100	0	85,71	14,29	0	100	35,71	64,29	57,14	42,86
	2	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
x_1, x_2, x_4	1	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
	2	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
x_1, x_3, x_4	1	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
	2	0	100	14,29	85,71	57,14	42,86	35,71	64,29	23,81	76,19
x_2, x_3, x_4	1	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
	2	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
x_1, x_2	1	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
	2	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
x_1, x_3	1	100	0	71,43	28,57	0	100	35,71	67,29	57,14	42,86
	2	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
x_1, x_4	1	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
	2	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
x_2, x_3	1	71,43	28,57	100	0	100	0	100	0	90,48	9,52
	2	28,57	71,43	85,71	14,29	100	0	92,86	7,14	71,43	28,57
x_2, x_4	1	85,71	14,29	71,43	28,57	14,29	85,71	42,86	57,14	57,14	42,86
	2	28,57	71,43	28,57	71,43	0	100	14,29	85,71	19,05	80,95
x_3, x_4	1	85,71	14,29	0	100	0	100	0	100	70,00	30,00
	2	42,86	57,14	0	100	0	100	0	100	19,05	80,95

Изводи

1. Участието на признака x_1 – дълбочина на пробовземане във всички комбинации представени за разпознаване е задължителен, а признака x_4 – съдържание на олово в почвата не е информативен за конкретните данни.

2. Прогнозирането на количеството микрофлора за месец септември по алгоритъм обучен с данни от месец юни е възможно с използването на комбинациите: x_1 – дълбочина на пробовземане, x_2 – влажност на почвата, x_3 – температура на почвата и x_1 – дълбочина на пробовземане, x_2 – влажност на почвата.

3. Прогнозирането за ноември не е надеждно. Това се обяснява с променените условия в

резултат на натрупването на нова биомаса в края на вегетационния период, повишената влажност в резултат на по-голямото количество валежи и понижаването на температурите през ноември. Микроорганизмите са изключително чувствителни индикатори и развитието им се определя от промяната на посочените и други фактори.

4. Конкретният статистически модел за разпознаване на състоянието на активността на почвената микробоценоза по косвени признаци се свежда до намаляване или премахване в определени периоди от време на скъпоструващите и времееотнемачи процедури за лабораторни анализи.

5. Определени са границите на коректност,

достоверност и практическа приложимост на представения математически модел.

Литература

Недев, А., Тенекеджиев, К., 1995. Техническа диагностика и разпознаване на образи Технически Университет-Варна, България

Adam, G., Duncan, H., 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biol Biochem* 33:943–951

Alef, K., Nannipieri, P., 1995 Soil nitrogen. In: *Alef K, Nannipieri P (eds) Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic, London, pp 79–87

Das P., Samantaray S., Rout R., 1997. Studies on cadmium toxicity in plants, a review. *Environmental pollution*, 98(1), 29-31

Dick, P., 1992. A review, long term effect of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 40(1-4), 25-36

Friedel, J. K., Mölter, K., & Fischer, W. R., 1994. Comparison and improvement of methods for determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and idonitrotetrazolium chloride. *Biology and fertility of soils*, 18(4), 291-296.

Hattori, H., 1992. Influence of Heavy Metals on Soil Microbial Activities. *Soil Science and Plant Nutrition*, 38(1), 93-100.

Kucharski, J., Jastrzębska E., 2006. Effect of heating oil on the activity of soil enzymes and the yield of yellow lupine. *Plant, Soil and Environment*, 52(5), 220–226

Machulla, G., 2003. Soil microbial indicators and their environmental significance. *Journal of Soils and Sediments*, 3(4), 229-229.

McLaughlin, M. J., Alston, A. M., & Martin, J. K., 1986. Measurement of phosphorus in the soil microbial biomass: a modified procedure for field soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 18(4), 437-443.

Torstensson, L. 1997. Microbial essays in soils. W: Soil ecotoxicology (Ed. Tarradellas et al.). Lewis Publishers. Boca Raton

Wyszkowska, J., Boros, E., & Kucharski, J., 2007. Effect of interactions between nickel and other heavy metals on the soil microbiological properties. *Plant Soil and Environment*, 53(12), 544.