



ФОНД
НАУЧНИ
ИЗСЛЕДВАНИЯ

МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА

Списание за наука

„Ново знание“

ISSN 2367-4598 (Online)

Академично издателство „Талант“

Висше училище по агробизнес и развитие на
регионите - Пловдив

New Knowledge

Journal of Science

ISSN 2367-4598 (Online)

Academic Publishing House „Talent“

University of Agribusiness and Rural Development -
Bulgaria

<http://science.uard.bg>

COMBINING STATISTICAL CRITERIA FOR DETERMINING MICROFLORA IN THE SOIL

Maria Konsulova¹, Pavlina Naskova¹, Boyka Malcheva², Dragomir Plamenov¹

¹Technical University - Varna, Bulgaria

²University of Forestry – Sofia, Bulgaria

Abstract: The model presents synthesized criteria for assessing the information value of the diagnostic features - depth of sampling, soil humidity, soil temperature and lead content in terms of the total microflora content at depths of 0-15 cm and 15-40 cm are two classes of state, the minimum allowable set of controllable signs is defined, which at the same time provides the best separation of states.

Keywords: diagnostic features, assessment criterion, agroecosystem, soil microflora, environmental factors

КОМБИНИРАНЕ НА СТАТИСТИЧЕСКИ КРИТЕРИИ ПРИ ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЧИСЛЕННОСТТА НА ПОЧВЕНАТА МИКРОФЛОРА

Мария Консулова¹, Павлина Наскова¹, Бойка Малчева², Драгомир Пламенов¹

¹Технически университет – Варна

²Лесотехнически университет – София

Резюме: Настоящият модел представя синтезирани критерии за оценка на информационната ценност на диагностичните признаци – дълбочина на вземане на пробата, влажност на почвата, температура на почвата и съдържание на олово по отношение на съдържанието на обща микрофлора на дълбочина 0-15cm и 15-40 cm. Формирани са два класа на състояние, определена е минималната допустима

съвкупност от контролируеми признаци, които в същото време осигуряват най-добро разделяне на състоянията.

Ключови думи: диагностични признаци, критерий за оценка, агроекосистема, почвена микрофлора, екологични фактори

ВЪВЕДЕНИЕ

Почвата е един от водещите компоненти на природната среда. Тя има пряко и косвено влияние върху състоянието не само на растителността, но и върху останалите компоненти на живата природа. Производителността на почвата се счита за важен фактор за успеха на селскостопанското производство (Brady et al., 2012; Susan et al., 1994). Тя зависи главно от почвените микроорганизми, участващи в различни процеси като формиране на почвената структура, трансформацията на органичното вещество, кръговрата на биогенните елементи, създаване на трофични вериги с растенията и почвената фауна и др., имащи отношение към почвеното плодородие. Числеността на микрофлората в почвата се определя от различни фактори като дълбочина на почвата, органична материя, порьозност, концентрация на кислород и въглероден диоксид, рН на почвата и т.н. В резултат на различни антропогенни въздействия могат да настъпят промени в почвените микробиални съобщества, водещи до негативни изменения в качеството на почвите (Петкова и др. 2015). Активността на микробиалните съобщества, както и тяхната плътност, могат да бъдат използвани като индикатор за промените (Dilly et al., 1998; Breland et al., 1999).

Повърхностният слой на почвата е относително беден на микроорганизми, тъй като там те не са защитени от пряка слънчева светлина и понижената влажност (<http://www.activestudy.info>). По-голямата част на микробната популация е съсредоточена на дълбочина 15-20 cm. Това се дължи на съдържанието на хумус, органичните остатъци, механичния състав на почвата. В този почвен хоризонт активността на почвените микроорганизми е най-голяма, а условията за развитието им – най-благоприятни. Наред с това през последните години обект на изследване е и разпределението на микроорганизмите по дълбочина на почвения профил с оглед участието им в биогеохимичните процеси и ролята им за дългосрочно съхраняване на почвения органичен въглерод (Ekelund, et al., 2001.; Goberna et al., 2005; Hansel et al., 2008; Will et al., 2010; Rumpel et al., 2011). Голям брой фактори оказват влияние върху структурата на почвените микробиални съобщества. Тъй като тези параметри се променят с увеличаване на дълбочината на почвения профил, естествено е да се очакват и промени в количеството и активността на почвената микрофлора (Петкова и др. 2015).

Установено е, че ниска численост на микробната популация се отчита в компактната почва, тази с нисък процент на органични вещества и по-дълбоките слоеве на почвата (Sunil et al., 2015). Определянето на броя на микроорганизмите на грам от почвата в различните почвени хоризонти дава възможност да се разкрие специфичният характер на количественото разпределение на микроорганизмите според видовете почви, като получените данни могат да служат като индикатор за състоянието на почвата.

Микробиологичните анализи са изключително специфични, имайки предвид необходимостта от бързото транспортиране на почвените проби, употребата на селективни и елективни хранителни среди, времето необходимо за изготвянето им, както и факта, че не винаги е възможно вземането на почвени проби на по-голяма дълбочина. Такива са урбогенните почви, които имат насипен произход, а при тях антропогенното натоварване е най-голямо, което определя необходимостта от непрекъснат почвен мониторинг за определяне състоянието на почвата. Един от

възможните наблюдавани компоненти, който е индикатор за устойчивата употреба на почвите, е числеността на микрофлора. Това налага необходимостта от наличието на бърз математически метод за определяне на числеността на почвената микрофлора по дълбочина на хоризонтите. Един от важните етапи в систематичното изследване на биологичните общности е математическото моделиране (Levin et al., 1993). Това включва идентифициране на основните оперативни фактори, създаване и проверка на математически модели, които симулират поведението на биологичната система и идентифицирането на параметри на модела въз основа на експериментални данни.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Пробите са взети през месец юни 2008 г. Заложени са 7 експериментални площадки (ЕП), като три от тях се намират в ж.к. Дружба и четири са разположени по Цариградско шосе в гр. София.

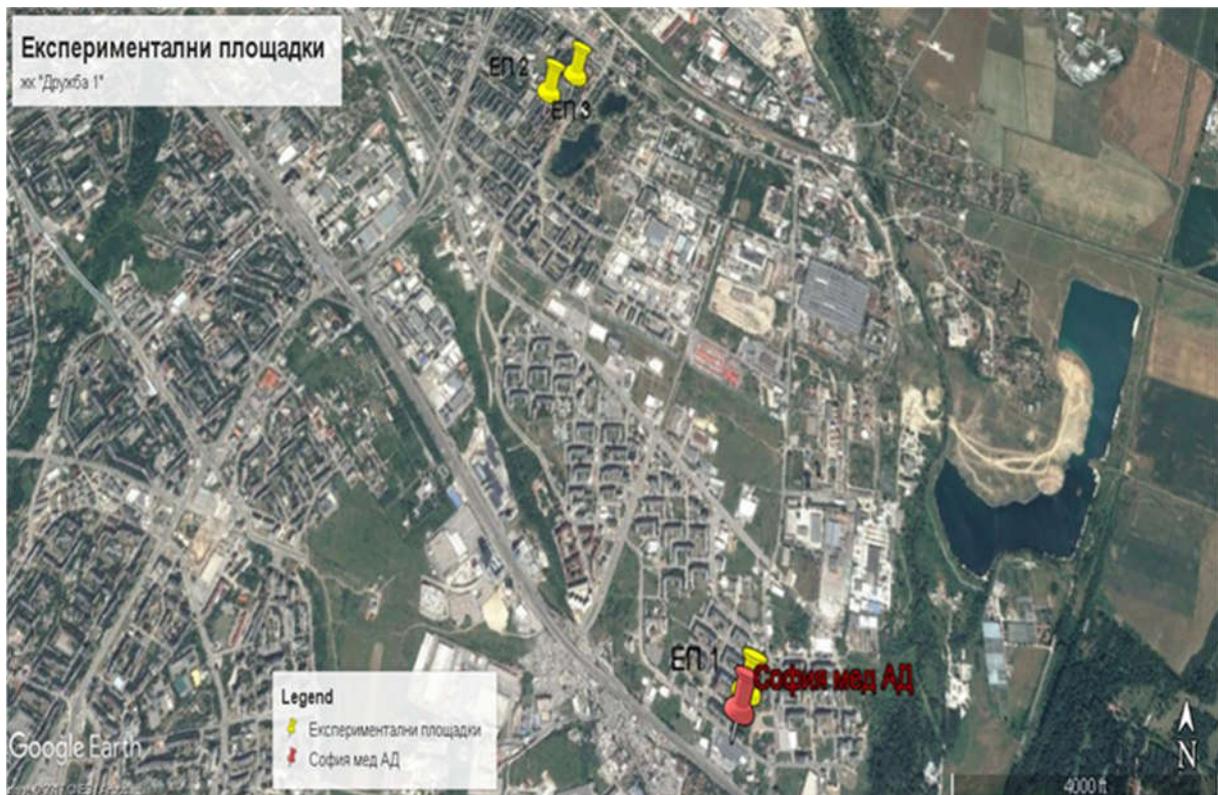
- урбогенни почви в индустриалната зона на ж.к. „Дружба 1“ (фиг. 1):

ЕП 1 – 50 m от компания „София мед“ АД (КЦМ) в ж.к. „Дружба 1“, тревна площ с основни видове тряска и мечо ухо, оградени с пирамидални тополи;

- жилищни комплекси върху урбогенни почви:

ЕП 2 – междублоково озеленяване, източната страна на бл. 44 (на около 2 km северозападно от индустриална компания „София Мед“), тревни видове (ежова главица, здравец, плевели), оградени от дребнолистна липа и люляк;

ЕП 3 – паркова площ пред кино „Искър“ (на около 2 km северозападно от индустриална компания „София Мед“), тревни видове (житни – райграс, тряска), оградени от сребристи липи, обикновени ясени и сребрист смърч.



Фиг. 1. Картохема на разположението на обектите в ж.к. „Дружба 1“

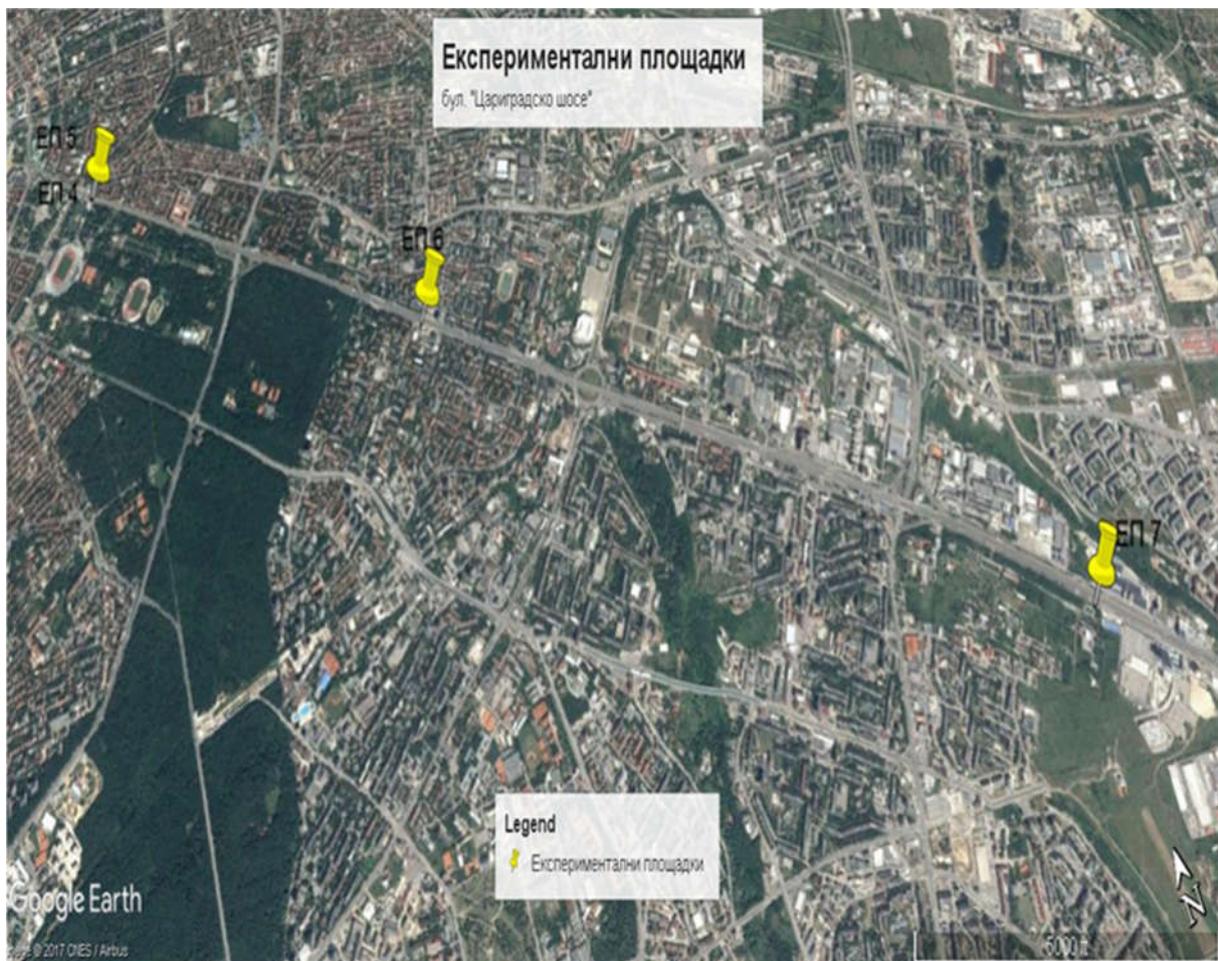
- булевард „Цариградско шосе“ – на различно отстояние от центъра („Орлов мост“) към изхода на града, в странични ивици на 50 cm от булеварда – 4 обекта (фиг. 2):

ЕП 4 – странична ивица на бул. „Цариградско шосе“, до подлез „Орлов мост“, без растителност;

ЕП 5 – странична ивица на бул. „Цариградско шосе“, непосредствено до ЕП4, градина с едногодишни ниски далии;

ЕП 6 – разделителна ивица между бул. „Цариградско шосе“ и локалното платно перпендикулярно на ул. „Ж. Кюри“ (срещу хотел „Плиска“), захрастяли обикновени ясени и кисел трън;

ЕП 7 – странична ивица на бул. „Цариградско шосе“ (изход на града), на отбивката за „Метро“, тревни видове (бяла детелина, теснолист живовлек и др.), както и единични иглолистни видове – сребрист смърч.



Фиг. 2. Картохема на разположението на обектите по протежението на бул. „Цариградско шосе“

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 посявката са съхранявани в хладилник при 4-10 С.

Почвени анализи

- Общата форма на оловото в почвата е определена чрез атомно-абсорбционен спектрофотометър „Perkin-Elmer“.

- Влажност 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 1 g абсолютно суха почва.

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

Теренното измерване на среднодневните температури на почвата е извършвано едновременно с вземане 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 1 g абс. суха почва.

ТЕОРЕТИЧНА ПОСТАНОВКА

Задачата, която си поставяме, е да синтезираме критерий за оценка на информационната ценност на диагностичните признаци – дълбочина на вземане на пробата, влажност на почвата, температура на почвата и съдържание на олово по отношение на съдържанието на обща микрофлора на дълбочина 0-15cm и 15-40 cm. При това се формират два класа на състояние – количествено микрофлора под $850 \text{ КОЕ} \times 10^3/\text{g}$ почва и над $2400 \text{ КОЕ} \times 10^3/\text{g}$ почва. В този случай разполагаме с непълна априорна информация за разпределенията на признаците по класове. Наличните данни показват съществено пресичане на областите на изменение на признаците. Крайната цел е определянето на минимално допустима съвкупност от контролируеми признаци, които в същото време осигуряват най-добро разделяне на състоянията. Известно е (Недев и др. 1994), че тази задача може да се реши чрез намаляване размерността на пространството на приемане на решение и чрез намаляване размерността на вектора на наблюдение. Тук се концентрираме върху първия аспект – анализ на контролируемите признаци и по възможност намаляване на техния брой преди извършване на конкретна изчислителна процедура по определяне на състоянието. Необходим е критерий, който не зависи от закона на разпределение и вида на разделящата функция, за които в повечето случаи няма достатъчно априорни данни. Имаме следната последователност – намиране на подходяща величина, изразяваща разделящите свойства на съвкупностите от признаци и посочване на конкретни количествени мерки на разделящите свойства.

Най-често считаме, че една съвкупност от признаци е по-добра от друга, ако тя подчертава по-добре сходството между обектите в една и съща група, наричана още клас на състояние и открива различията между обектите в различните групи, класове на състояние. За изразяване на сходството между обектите, обикновено се използва известния квадратичен критерий:

$$J_{кв} = \sum_{k=1}^c \sum_{X \in X_k} \|x - \mu_k\|^2 \quad (1)$$

, където x – вектор на наблюдение, c – брой класове на състояние, μ_k – вектор на математическите очаквания по класове:

$$\mu_k = \frac{1}{m_k} \sum_{x \in X_k} x \quad (2)$$

m_k – средно аритметично

Търсим такава съвкупност от признаци X , при които $J_{кв}$ приема минимална стойност. Този критерий обаче изразява само вътрешногруповите свойства на извадките – сравнява дали наблюденията в една извадка са по-добре съсредоточени около една точка в пространството, отколкото наблюденията в друга извадка.

Критериите, които изразяват различията между класовете, в повечето случаи са функции на разстоянието между обектите от различните групи. Приемаме, че изходната съвкупност от признаци е с размерност l , и сравняваме разделящите свойства на признаците с избрана съвкупност с размерност d ($d < l$). Според критериите от този тип, ако наблюденията за различните класове, представени като точки в пространството, са по-отдалечени помежду си в пространство с размерност d , отколкото в пространство с размерност l , то съвкупността от признаци X_d описва по-добре различията между класовете отколкото X_l .

Следва да се очаква, че критерий, който описва едновременно сходството в класовете и различията между сравняваните извадки, ще доведе до по-добри резултати, отколкото споменатите по-горе частни критерии. За синтезиране на такъв могат да се използват известните в дискриминантния анализ матрици на разсейване.

При два класа на състояние, когато оценките се извършват само на база разполагаемата извадка за стойностите на признаците, матрицата на вътрешногруповото разсейване има вида:

$$S_W = \sum_{k=1}^c S_k \quad (3)$$

$$\text{където } S_k = \sum_{x \in W_k} (x - \mu_k)(x - \mu_k)^T \quad (4)$$

Матрицата на разсейването между класовете може да се изчисли от:

$$S_B = (\mu_1 - \mu_2) \cdot (\mu_1 - \mu_2)^T \quad (5)$$

Тогава като критерий за оценка на диагностичната ценност на признаците се използва отношението на матриците на междугруповото и вътрешногруповото разсейване по класове на състояние:

$$J = \frac{S_B}{S_W} = \max \quad (6)$$

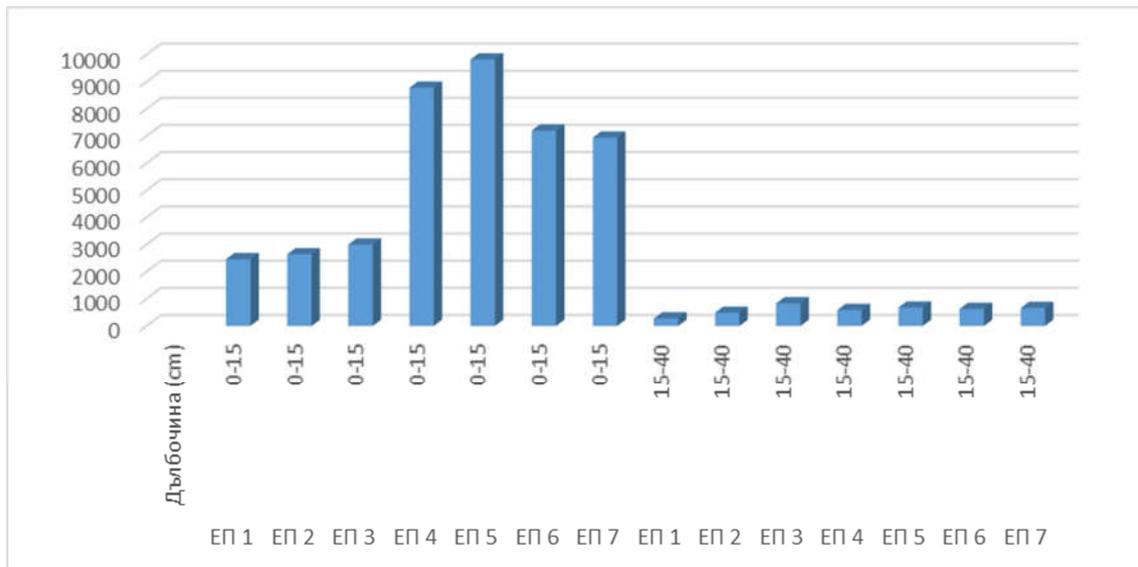
С избора на критерий (6) решаваме първата част на задачата – предлага се оценка за качеството на избрана съвкупност от признаци, без обаче да е посочена конкретна процедура за избор на оптимална съвкупност. От практическа гледна точка и имайки предвид размерността на задачата формирането на оптимална съвкупност от признаци, може да стане чрез градиентна процедура с последователно увеличаване на вектора на наблюдение. При четири признака алгоритъмът има следната последователност:

- Определяне на най-добър самостоятелен признак.
- Определяне на най-добра двойка признаци.
- Определяне на най-добрата тройка признаци.
- Оценка на пълната съвкупност.

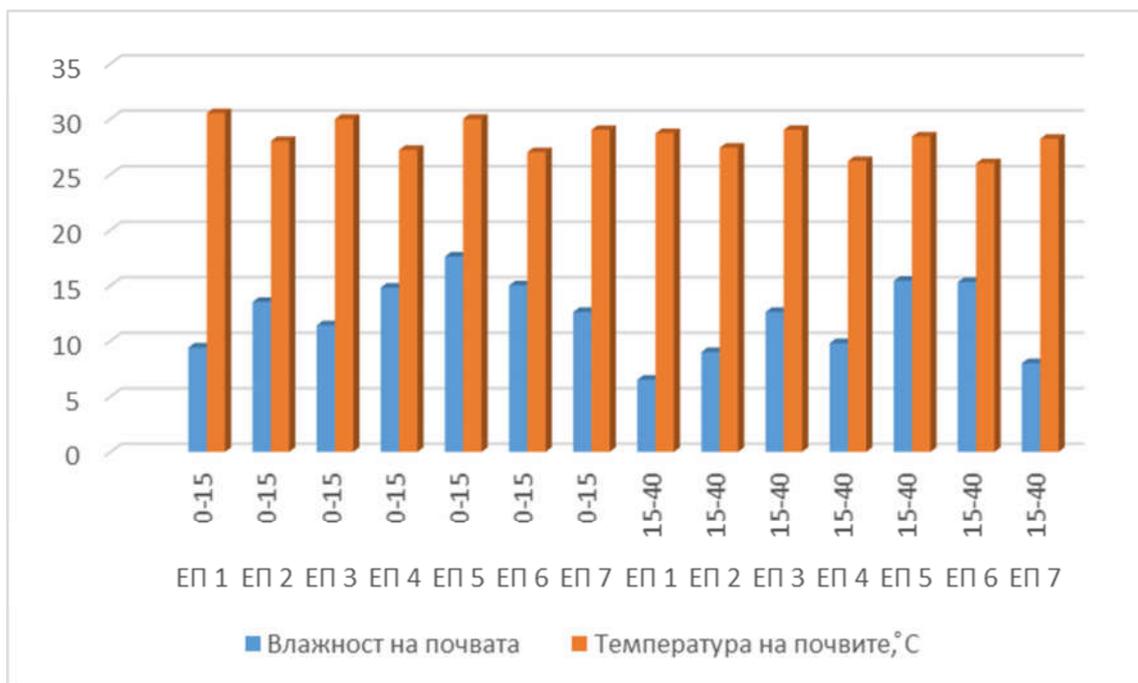
На всяка стъпка оценката се прави на база избрания критерий (6).

АНАЛИЗ НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ

4. Експерименталните данни, с които разполагаме, са представени на фиг. 3 и фиг.



Фиг. 3. Численост на общата микрофлора за м. юни в два почвени хоризонта ($10^3/g$)



Фиг. 4. Влажност и температура на почвата за м.юни

Признаците, които се оценяват, са: x_1 – дълбочина на вземане на пробата; x_2 – влажност на почвата, x_3 – температура на почвата; x_4 – съдържание на олово.

При анализа на експерименталните данни следваме дефинираните по-горе стъпки от градиентната процедура.

1) Определяне на най-добър самостоятелен признак.

Тази задача е решена и представена в предни разработки на същия колектив, когато чрез регресионен и корелационен анализ е изследвано влиянието на

променливите величини – факторите върху независимата променлива – обща микрофлора. Като признак с най-съществено влияние върху числеността на микрофлората се откроява дълбочината на вземане на пробата – x_1 . Предложеният в настоящата разработка критерий дава същите резултати.

2) Определяне на най-добра двойка признаци.

В съответствие с градиентната процедура разглеждаме двойките признаци x_1x_2 , x_1x_3 , x_1x_4 . Резултатите, представени в табл. 1, показват най-високи стойности на критерия (6) при двойката x_1x_3 . Освен това изчислената стойност $J_{1,3}=7.55$ дава основание да се приеме, че има по-добра разделимост на класовете при добавяне на допълнителен критерий – температура на почвата.

3) Определяне на най-добра тройка признаци.

На тази стъпка от алгоритъма към най-добрата двойка x_1x_3 се добавят съответно признаци x_2 и x_4 . По-добрият вариант е този с признак вектора, отразяващ влиянието на влажността на почвата. Оказва се, че съдържанието на олово в почвата е с по-ниска диагностична ценност от останалите признаци.

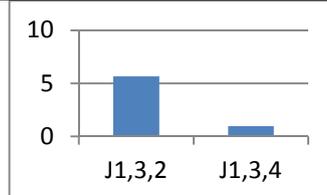
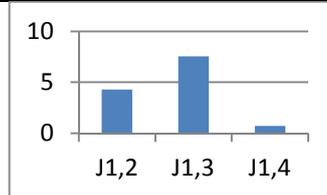
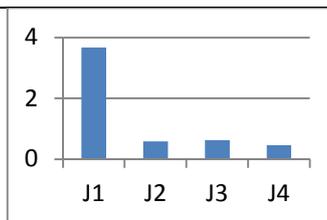
4) Оценка на пълната съвкупност.

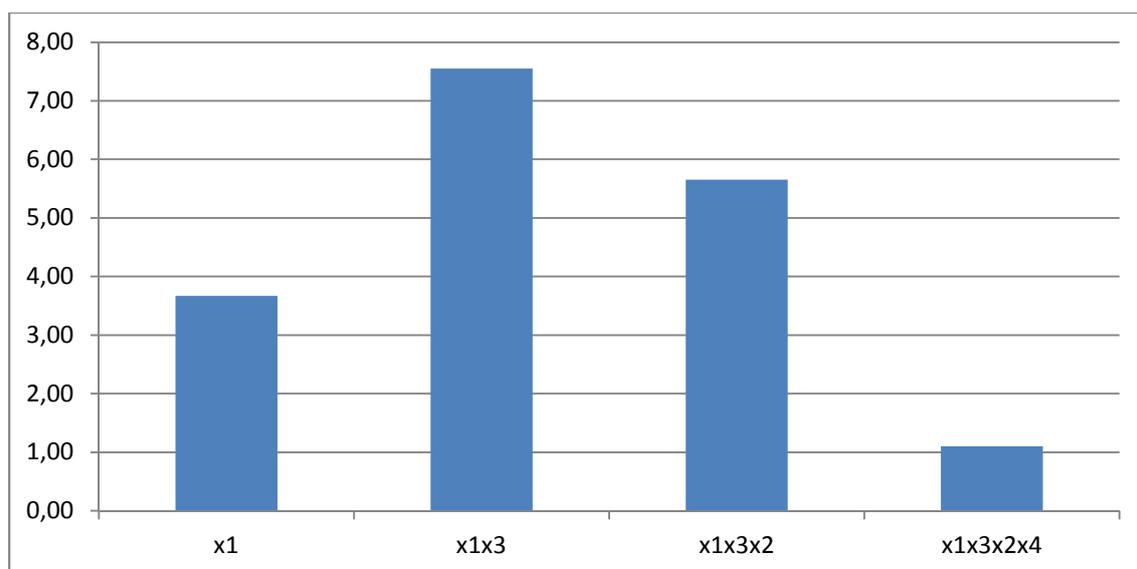
За пълнота на анализа е направена проверка по критерий (6) и на вариант с пълна съвкупност от признаци. Получената стойност за критерия J показва, че този вариант не дава по-добри резултати при разделянето на дефинираните класове на състояние.

На фиг. 5 може да се види сравнение между най-добрите резултати, получени на всяка от стъпките от процедурата за оценка на диагностичната ценност на признаците. Резултатите показват, че на база анализ на експерименталните данни можем да намалим съвкупността от признаци за разпознаване от четири на два – дълбочина на вземане на пробата и температура на почвата.

Таблица 1. Резултати от градиентна процедура за оценка на диагностичната ценност на признаците за разпознаване

Стъпка	Признаци	J	
I	x_1	$J_1=$	3,66947738
	x_2	$J_2=$	0,592728
	x_3	$J_3=$	0,634241
	x_4	$J_4=$	0,460296
	най-добър		x_1
II	x_1x_2	$J_{1,2}=$	4,300611
	x_1x_3	$J_{1,3}=$	7,54967018
	x_1x_4	$J_{1,4}=$	0,712919
	най-добър вектор		x_1x_3
III	$x_1x_3x_2$	$J_{1,3,2}=$	5,65247614
	$x_1x_3x_4$	$J_{1,3,4}=$	0,953348
	най-добър вектор		$x_1x_3x_2$
IV	$x_1x_3x_2x_4$	$J=$	1,10526062





Фиг. 5. Сравнение на най-добрите резултати за всяка от стъпките на градиентната процедура

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предложеният статистически подход за оценка на разделящите свойства на косвени признаци е добра основа за получаването на критерии за определяне на полезността на признаците при бъдещо разпознаване на две или повече разпознаваеми алтернативи.

2. Комбинирането на статистическите критерии за оценка са процедури за движение близки до градиентните са добра база за определяне на оптимални съвкупности от признаци за бъдещо косвено разпознаване или прогнозиране.

3. Конкретно получените резултати показват, че най-информативна за косвено оценяване на числеността на почвената микрофлора е съвкупността от два диагностични признака: дълбочина на вземане на пробата и температура на почвата.

4. За окончателно определяне на най-добрите съвкупности от признаци за разпознаване на числеността на почвената микробна популация е необходимо и комбинирането на този статистически подход с конкретна процедура за разпознаване: невронни мрежи, дискриминантни линейни и нелинейни алгоритми при известни или неизвестни закони за разпределение на косвените признаци и др.

ЛИТЕРАТУРА

1. Недев, А., К. Тенекеджиев. Техническа диагностика и разпознаване на образи. Варна: Технически Университет, 1994.

2. Петкова, Г., Г. Атанасова, М. Харизанова. 2015. Микробиологична характеристика на техногенно повлияни Ливадно-канелени почви. Почвознание агрохимия и екология, год. XLIX, № 2 София.

3. Brady, C., R., Weil. 2012. The Nature and Properties of Soils. (14th edn), Dorling Kindersley India Pvt. Ltd, Noida, India

4. Breland, T., R. Eltun, R., 1999. Soil microbial biomass and mineralization of carbon and nitrogen in ecological, integrated and conventional forage and arable cropping systems. Biology and Fertility of Soils, 30:193–201

5. Dilly, O., J, Munch, 1998. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils. Biology and Fertility of Soils, 27: 374-379.

6. Ekelund, F., R. Ronn, S. Christensen. 2001. Distribution with depth of Protozoa, bacteria and fungi in soil profiles from three Danish forest sites. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 475-481;
7. Goberna, M., H. Insan, S. Klammer, J. Pascual, J. Sanchez. 2005. Microbial community structure at different depths in disturbed and undisturbed semiarid Mediterian forest soils. *Microbial Ecology*, 50, 315-326;
8. Hansel, C., S. Fendorf, P. Francis. 2008. Changes in bacterial and archaeal community structure and functional diversity along a geochemically variable soil profile. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 1620-1633;
9. Levin M., Hatflill G. 1993. Mycobacterium smegmatis RNA polymerase: DNA supercoiling, action of rifampicin and mechanism of rifampicin resistance.// *MoLMicrobiol.-V.8.* - p.277-285
10. Rumpel, C., I. Kogel-Knabner. 2011. Deep soil organic matter-a key but poorly understood component of terrestrial C cycle. *Plant and Soil*, 338, 143-158
11. Sunil, P., N, Ullah. 2015. Variation of Soil Microbial Population in Different SoilHorizons, *Journal of Microbiology & Experimentation*
12. Susan, D., L, Nina. 1994. A review of the effects of soil compaction and amelioration treatments on landscape trees. *Journal of Arboriculture* 20(1). January.
13. Will, C., A. Thirmer, A. Wollherr, H. Nacke, N. Herold, M. Schrupf, J. Gutknecht, T. Wuber, F. Buscot, R. Daniel. 2010. Horizon-specific bacterial community composition of German grassland soils, as revealed by pyrosequencing-based analysis of 16SrRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 876, 20, 6751-6759;
14. <http://www.activestudy.info>

References

1. Nedev, A., K. Tenekedzhiev. *Tehnicheska diagnostika i razpoznavane na obrazi.* Varna: Tehnicheski Universitet, 1994.
2. Petkova, G., G. Atanasova, M. Harizanova. 2015. Mikrobiologichna karakteristika na tehnogenno povliyani Livadno-kaneleni pochvi. *Pochvoznanie agrohimiya i ekologiya*, god. XLIX, № 2 Sofiya.
3. Vrady ,C., R.,Weil. 2012. *The Nature and Properties of Soils.* (14th edn), Dorling Kindersley India Pvt. Ltd, Noida, India
4. Breland, T., R. Eltun, R., 1999. Soil microbial biomass and mineralization of carbon and nitrogen in ecological, integrated and conventional forage and arable cropping systems. *Biology and Fertility of Soils*, 30:193–201
5. Dilly, O., J, Munch, 1998. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils. *Biology and Fertility of Soils* , 27: 374-379.
6. Ekelund, F., R. Ronn, S. Christensen. 2001. Distribution with depth of Protozoa, bacteria and fungi in soil profiles from three Danish forest sites. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 475-481;
7. Goberna, M., H. Insan, S. Klammer, J. Pascual, J. Sanchez. 2005. Microbial community structure at different depths in disturbed and undisturbed semiarid Mediterian forest soils. *Microbial Ecology*, 50, 315-326;
8. Hansel, C., S. Fendorf, P. Francis. 2008. Changes in bacterial and archaeal community structure and functional diversity along a geochemically variable soil profile. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 1620-1633;
9. Levin M., Hatflill G. 1993. Mycobacterium smegmatis RNA polymerase: DNA supercoiling, action of rifampicin and mechanism of rifampicin resistance.// *MoLMicrobiol.-V.8.* - p.277-285

10. Rumpel, C., I. Kogel-Knabner. 2011. Deep soil organic matter-a key but poorly understood component of terrestrial C cycle. *Plant and Soil*, 338, 143-158
11. Sunil, R., N, Ullah. 2015. Variation of Soil Microbial Population in Different Soil Horizons, *Journal of Microbiology & Experimentation*
12. Susan, D., L, Nina. 1994. A review of the effects of soil compaction and amelioration treatments on landscape trees. *Journal of Arboriculture* 20(1). January.
13. Will, C., A. Thirmer, A. Wollherr, H. Nacke, N. Herold, M. Schrumpf, J. Gutknecht, T. Wuber, F. Buscot, R. Daniel. 2010. Horizon-specific bacterial community composition of German grassland soils, as revealed by pyrosequencing-based analysis of 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 876, 20, 6751-6759;
14. <http://www.activestudy.info>