

OCENA PODOBIENSTW I RÓŻNIC MIĘDZY ZBIOROWISKAMI GLONÓW GLEBOWYCH. METODA HIERARCHICZNEJ ANALIZY SKUPIEŃ

Estimation of likeness and diversity between soil algal community
Hierarchical cluster analysis method

Dorota SIEMINIAK, Antoni MILER, Remigiusz SZYMAŃSKI

Summary. Three sites (Laskowice, Rogaczewo, Balcyny) separated by about 250–350 km were investigated from April 1976 to November 1977: three rye fields and sugar-beet field. Modified Braun-Blanquet method and hierarchical cluster analysis to estimate algal quantity and to compare soil algal communities was applied. Quadrats were sampled at each site by collecting 2 mm thickness of soil surface. The representative sample was treated in a flask with liquid medium. Algal presence and cover in the samples was estimated from 3–5 slides prepared according to modified Braun-Blanquet method. Sørensen's and Jaccard's coefficients calculated for each field was also applied. The results of both calculations are similar.

Key words: soil algal communities, hierarchical cluster analysis

Dr Dorota Sieminiak, dr inż. Antoni Miler, mgr Remigiusz Szymański, Zakład Badań Środowiska Rolniczego i Leśnego, Polska Akademia Nauk, ul. Bukowska 19, 60–809 Poznań

WSTĘP

Zainteresowanie badaczy glonami glebowymi zaznacza się od XIX wieku, jednakże prace dotyczące zbiorowisk glonów glebowych podających listy gatunków wraz z ilościowością są rzadkie. Przyczyną nielicznych opracowań uwzględniających ilości przedstawicieli poszczególnych gatunków są trudności metodyczne. Pojawiają się one z jednej strony przy identyfikacji glonów, związanej w wielu przypadkach z koniecznością izolacji i prowadzenia hodowli, z drugiej strony, przy wymagającym nadal udoskonaleń oddzielaniu glonów od gleby i bezpośrednim liczeniu pod mikroskopem. Nawet zastosowanie w ostatnich latach urządzeń ultradźwiękowych do wydzielania glonów z gleby nie daje pewności jednakowej selekcji z różnych

podłoży glonów jedno, wielokomórkowych i nitkowatych [12]. Początkowo ilościowość glonów oznaczano trzema wskaźnikami: „rzadko”, „dość często” i „często”, jak np. w pracy Johna [6], lub dla zwiększenia dokładności metody dodawano jeszcze dwa oznaczenia: „sporadycznie” i „masowo”. Przeważnie spotyka się jednak prace z oznaczonymi tylko do rodzaju glonami i niekiedy obliczoną na podstawie obecności w poszczególnych próbach frekwencją [1, 9], lub prace, w których liczenie komórek glonów prowadzono metodą bakteriologiczną, stosując posiew zawiesiny na pożywkę i inkubację [5]. Do rzadkości należy praca Forest'a [2], który stosując metodę bakteriologiczną przytacza jeszcze frekwencję części gatunków. Istnieją jednakże poglądy, że stosując metody bakteriologiczne

Tabela 1. cd.

Table 1. cont.

Żyto (rye)												burak cukrowy (sugar-beet)				
Bałcyny												frekwencja (frequency)	stopień stałości (constancy)	Rogaczewo		
1986														1986		
18 VI				6 VIII				10 VI	10 VII	8 VIII						
23	23	26	8	20	22	21	14	15	16	12						
1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3						
+		+		r	+		+	38	II	+						
2	2	1	+	2	+	2	+	38	II	1						
+	1	1	1	1	+	2	2	33	III	1						
1	+	+	1	1	2	r	r	50	III	2						
+		+	r	1		+	+	25	III	+						
+	+	1		1	r	2	1	42	III							
		r	+	1	1	r		50	III	1						
					+		+	17	I	+						
								4	I							
	+		+	+	+	r		17	I	+						
				+	2	+	+	13	I							
1	+	+	r		+	+	+	29	II							
		+		+	1			13	I							
				+				8	I							
							+	4	I	+						
			+					50	III	+						
r		+						13	I	r						
+			+					13	I							
+	1	1		2	2	1	1	88	V	+						
1	2	1		+	3	3		75	IV	1						
				r			+	38	II							
+	+		+	+		+	25	II		+						
+								8	I							
						+		4	I							
								4	I							
	+	+					+	38	II							
	+							13	I							
		1						8	I							
			+	r	+	1		67	IV	1						
								38	II	+						
			r					54	III	1						
								38	II	+						
1			2					13	I							
		+		1	+	+	+	8	I							
		+		r	1	2	+	92	V	+						
		1		+	1	+		83	V	1						
+	1	2		+	1	+		83	V	+						
+	1	1		+	1	+		83	V							
1	+	+		+	+	+		67	IV	r						
+		+		+	+	+		63	IV							
		+		+	+	1		63	IV							
								17	I							
								8	I							
								4	I							
				r				4	I							
								33	II	+						
+	+	+						46	III	1						
+	+			+				33	II							
								24	II	+						
+								16	I							
	1							13	I							
								8	I							
								8	I							
								4	I							
								4	I							

uzyskuje się zaniżone wyniki, w kulturach następują zmiany wielkości komórek, jest różna szybkość wzrostu osobników różnych gatunków i zachodzą trudności przy doborze pożywki jednakoowo dobrej dla wszystkich grup glonów [3]. Ponadto, metoda bakteriologiczna stwarza jednakowe szanse rozwoju dla wszystkich organizmów glonowych stanowiących zarówno florę efemeryczną, przypadkową, pomnażającą się nagle, nie związaną ze specyfiką danej gleby, jak i florę trwałą, przywiązaną do warunków określonej gleby. Wpływy zewnętrzne, jak np. stosowanie obróbki gleby, powodują zmiany w składzie aktualnie rozwijających się glonów [3]. Jednakże nie wszystkie organizmy w czasowo zaistniałych niekorzystnych dla siebie warunkach zawsze giną. Mogą one także pozostawać w glebie w stadiach przetrwalnych, których rozwój nastąpi po zaprzestaniu działania hamującego czynnika, np. na pożywcę przy stosowaniu metody bakteriologicznej. W pracach badaczy szkoły radzieckiej stosujących metodę bezpośredniego liczenia komórek glonów pod mikroskopem [13, 11], opisujących glony glebowe fitocenozy pustyni i bagien, podane są także albo listy gatunków z zaznaczonym brakiem lub obecnością komórek w poszczególnych próbach, albo liczby komórek glonów czy biomasa w gramie gleby, niekiedy bez podania rodzajów lub nawet gromad glonów. Przy porównywaniu zbiorowisk stosowane były dotąd współczynniki Jaccarda, Sörensena, Malysheva [10, 15], Kendala lub Stugrena-Radulesku [13]. W niniejszej pracy przedstawiono nową metodę analizy zbiorowisk glonów glebowych. Preferuje ona glony aktywnie rozwijające się w momencie zbioru, pozwala także na rozpoznanie większości gatunków, szacunkową ocenę ich ilości w zbiorowisku i porównywanie ze sobą zbiorowisk glonów.

Obok klasycznych metod ustalania podobieństwa między zbiorowiskami coraz częściej przydatne okazują się metody numeryczne. Jedną z nich jest metoda grupowania obiektów wielocechowych na podstawie odległości euklidesowych.

OPIS METODY

Wśród wielu metod analizy skupień – metody grupowania hierarchicznego wyróżniają się prostotą algorytmów obliczeniowych. Poniżej przedstawionych jest sześć takich metod. Algorytm dla pierwszych pięciu metod: metody najbliższego sąsiedztwa, najdalszego sąsiedztwa, mediany, średniej grupowej oraz środka ciężkości, przedstawili Lance i Williams [8]. Natomiast Wishart [14] rozszerzył ten algorytm o metodę Warda.

Niech danych będzie „n” obiektów, z których każdy opisany jest przez „m” zmiennych (cech). Wówczas każdy obiekt może być reprezentowany przez punkt w „m” wymiarowej przestrzeni Euklidesowej. Współrzędne tego punktu to odpowiednie wartości poszczególnych zmiennych. Nasze zadanie polega na wykryciu „skupień” tych punktów w przestrzeni na podstawie analizy zbioru ich wzajemnych odległości. Wszystkie sześć opisanych sposobów grupowania to metody typu aglomeratywnego, polegające na łączeniu obiektów w sposób hierarchiczny. Początkowo wszystkie „n” obiektów traktujemy jako skupienia jednoelementowe. Następnie łączymy je krok po kroku kolejno w n-1, n-2, ..., 2 grupy. Fuzja obiektów dokonuje się według pewnego kryterium, odpowiedniego dla danej metody. Metoda najbliższego sąsiedztwa polega na znalezieniu minimum w zbiorze najkrótszych odległości pomiędzy elementami, pochodzącymi z dwóch różnych grup (utworzonych w poprzednim kroku), oraz na połączeniu tych dwu grup. Analogiczny algorytm zawarty jest w metodzie najdalszego sąsiedztwa. Metoda mediany polega na znalezieniu minimum w zbiorze „środkowych” (w sensie mediany) odległości między elementami pochodzącymi z dwu różnych grup (utworzonych w poprzednim kroku) oraz na połączeniu takich dwu grup. Metoda średniej grupowej polega na fuzji takich dwóch skupień, dla których średnia odległość pomiędzy elementami jednego i elementami drugiego skupienia jest najmniejsza. Metoda środka ciężkości polega na fuzji takich dwóch skupień, dla któ-

rych odległości pomiędzy środkami ciężkości są najmniejsze. Metoda Warda polega na fuzji takich dwóch skupień, które po połączeniu w jedno skupienie dają minimum sumy kwadratów odchyień wszystkich elementów od środków ciężkości skupień, do których należą.

Obszerniejszy opis powyższych metod zawarty jest w pracy Karońskiego i Calińskiego [7]. W niniejszej pracy autorzy prezentują wyniki obliczeń w oparciu o własny oryginalny program napisany w języku PASCAL dla mikrokomputerów PC. Z uwagi na obszerność nie zamieszcza się w pracy wersji źródłowej programu - tabulogramu. Wszystkim osobom zainteresowanym powyższym programem autorzy udostępnią nieodpłatnie kopię (po dostarczeniu dyskietki).

PRZEDMIOT BADAŃ I METODYKA OZNACZEŃ

Opisaną wyżej metodę zastosowano do porównania zbiorowisk glonów glebowych, rozwijających się w uprawach żyta i buraka na poletkach badawczych Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie (PGR Bałcyny), Akademii Rolniczej we Wrocławiu (IUNG Laskowice Oławskie) i Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu (PGR Rogaczewo). Ogółem oznaczono dwa rodzaje, 55 gatunków, 2 odmiany i jedną formę glonów. Do badań pobierano po 15 prób z powierzchni gleby, do głębokości 2 mm (kwadrat o boku 10 cm) systematycznie wzdłuż transektu i opracowywano wg metod opisanych przez Gollerbakha i Shtinę [3] oraz MacEntee i in. [9]. Poletka badawcze w Bałcynach miały powierzchnię około 60 m², a w Laskowicach i Rogaczewie 120 m². Próbkę średnią (10 cm³) zalewano w kolbce 40 ml pożywki (wyciąg glebowy wzbogacony Chu-10). Udział w niej glonów oceniano wg zmodyfikowanej dla glonów metody Brauna-Blanqueta. Polega ona na notowaniu pokrycia glonów w sporządzonych preparatach mikroskopowych (komora algologiczna), w okresie do dwóch lub czterech tygodni (w zależności od stopnia wilgotności gleby) od pobrania próby. Ponownie, zgodnie z zaleceniami [9], próby

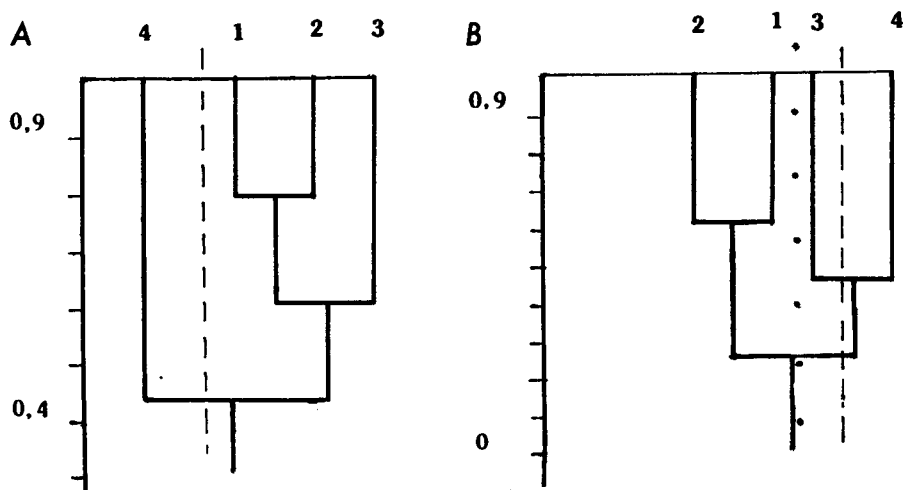
Tabela 2. Współczynniki Sörensena (S) i Jaccarda (J) dla zbiorowisk glonów w uprawach żyta i buraka cukrowego.

Table 2. Sörsen's (S) and Jaccard's (J) coefficients of algal communities in rye and sugar-beet fields.

uprawa: (field)	Żyto (rye)			burak cukrowy (sugar-beet)
obiekt badań: (locality)	Laskowice	Rogaczewo	Bałcyny	Rogaczewo
Laskowice	S = 100 J = 100	75 60	67 51	52 36
Rogaczewo	S = 75 J = 60	100 100	76 62	53 37
Bałcyny	S = 67 J = 51	76 62	100 100	60 43

sprawdzono po trzech miesiącach hodowli. W zestawieniu wyników badań (tab.1) przyjęto następującą skalę: „r” – 0–1%, „+” – 1–5%, „1” – 5–20%, „2” – 20–40%, „3” – 40–60%, „4” – 60–80% i „8” – 80% pokrycia glonami. Ilości poszczególnych taksonów odzwierciedlają pokrycie glonów w przejrzanych polach widzenia 3–5 preparatów, wyrażone w procentach. Obliczenia numeryczne przeprowadzono

biorąc pod uwagę wyłącznie obecność gatunku, tak samo jak przyjmuje się przy współczynnikach Sörensena i Jaccarda, a także uwzględniając ilościowość gatunku. W drugim przypadku do przeliczeń numerycznych przyjęto wartości: „r” – 0,5%, „+” – 2,5%, „1” – 10%, „2” – 30%, „3” – 50%, „4” – 70% i „8” – 90%. Za pomocą obliczeń numerycznych, a także obliczeń współczynników Sörensena i Jaccarda porównywno ze sobą każdą z trzech grup prób w życie (Laskowice, Rogaczewo, Bałcyny) i grupę prób buraka cukrowego w Rogaczewie. Łącznie dla wszystkich prób żyta obliczono frekwencję i stopień stałości. W tabeli 2 zestawiono współczynniki Sörensena „S” i Jaccarda „J” dla zbiorowisk glonów w uprawach żyta i buraka cukrowego. Wartości zestawione w tabeli 2 świadczą o znacznym podobieństwie między zbiorowiskami glonów w uprawach żyta, oraz o istnieniu różnic między zbiorowiskami w uprawach żyta i buraków cukrowych.



Rys.1. Wyniki obliczeń przy zastosowaniu metody grupowania obiektów wielocechowych w formie dendrogramów ; A – dendrogram dla tablicy odległości obliczonej wyłącznie na podstawie obecności gatunku ; B – dendrogram dla tablicy odległości obliczonej przy wykorzystaniu ilościowości gatunku. (oznaczenia: 1 – Laskowice – żyto ; 2 – Rogaczewo – żyto; 3 – Bałcyny – żyto ; 4 – Rogaczewo – buraki cukrowe).

Fig.1. Presentation in dendrogram's form results of calculation by using grouping of multivariate objects method. A – dendrogram of table Euklidean distance calculated on the ground of present of taxa; B – dendrogram of Euklidean table distance calculated on the ground of quantity of taxa ; (where: 1 – Laskowice – rye ; 2 – Rogaczewo – rye ; 3 – Bałcyny – rye ; 4 – Rogaczewo – sugar-beets).

ZASTOSOWANIE HIERARCHICZNEJ METODY GRUPOWANIA OBIEKTÓW WIELOCECHOWYCH

Obliczenia numeryczne przeprowadzono, jak wyżej wspomniano, za pomocą specjalnie w tym celu opracowanym programu. Jako obiekty przyjęto: 1 – Laskowice (uprawa – żyto), 2 – Rogaczewo (żyto), 3 – Bałcyny (żyto) i 4 – Rogaczewo (buraki cukrowe). Jako cechy przyjęto 60 taksonów glonów glebowych.

W wyniku obliczeń otrzymano dwie tablice wzajemnych odległości pomiędzy 4 obiektami o 60 cechach, oraz ich podział na 3 i 2 grupy przy użyciu różnych metod. Przy podziale na 3 grupy (dla wszystkich 6-ciu metod zarówno w obliczeniach na obecność jak i ilościowość gatunku), obiekty 1 i 2 stanowią jedną grupę, a obiekty 3 i 4 stanowią dwie odrębne grupy. Natomiast przy podziale na 2 grupy dominował następujący podział: obiekty 1, 2 i 3 stanowiły jedną grupę, a obiekt 4 grupę drugą. Wystąpił również inny podział na dwie grupy: obiekty 1 i 2 – jedna grupa, a obiekty 3 i 4 – druga grupa. Wyniki obliczeń można obrazowo przedstawić w formie dendrogramów (rys. 1).

Poszczególne metody dały w zasadzie zgodne podziały, co może świadczyć o wyraźnych różnicach pomiędzy obiektami należącymi do dwóch różnych grup.

Wynik ten jest w pełni zgodny z obliczonymi współczynnikami podobieństwa Sørensen i Jaccarda dla wyżej opisanych obiektów.

WNIOSKI

Otrzymane wyniki przy pomocy metod grupowania hierarchicznego (z zastosowaniem numerycznego programu) stanowią podstawę pogłębionego wnioskowania o podobieństwie pomiędzy poszczególnymi obiektami, których uchwycenie przy zastosowaniu innych metod jest bardzo utrudnione lub prawie niemożliwe.

W przykładzie obliczeniowym pokazano zgodność wyników uzyskanych metodą grupowania hierarchicznego z wykorzystaniem odległości euklidesowej z wynikami uzyskanymi za pomocą wzorów Sørensen i Jaccarda.

LITERATURA

- [1] ARCHIBALD P. A. 1971. Preliminary survey of the edaphic algae of Costa Rica and San Andreas Isle. *Soil Science* 113(1): 63–64.
- [2] FOREST H. S. 1962. Analysis on the soil algal community. *Trans. Am. Microscop. Soc.* 81: 189–198.
- [3] GOLLERBAKH M. M., SHTINA E. A. 1969. Pochvennye vodorosli. Nauka, Leningrad, ss. 227.
- [4] GREIG-SMITH P. 1964. Quantitative plant ecology. Butterworths, London, ss. 256.
- [5] HUNT M. E., FLOYD G. L., STOUT B. B. 1979. Soil algae in field and Forest environments. *Ecology* 60(2): 362–375.
- [6] JOHN R. P. 1942. An ecological and taxonomic study of the algae of British soils. I. Distribution of the Surface-growing algae. *Annals of Botany* 6: 323–349.
- [7] KAROŃSKI M., CALIŃSKI T. 1973. Grupowanie obiektów wielocechowych na podstawie odległości euklidesowych. *Roczn. Akad. Rolniczej w Poznaniu* 64.
- [8] LANCE G. M., WILLIAMS W. T. 1967. A general theory of classificatory sorting strategies. 1. Hierarchical systems. *Computer J.* 9: 373–80.
- [9] MACENTEE F. J., Schrecenberg Sister Gervasia, Boldt H. C. 1971. Some observations on the distribution of edaphic algae. *Soil Science* 114(3): 171–179.
- [10] MALYSHEV L. I. 1972. Floristicheskie spektry Sovetskovo Sojuza. W: *Istoria flory i rastitelnosti Evrazyi*, Nauka, Leningrad, ss. 17–40.
- [11] NOVICHKOVA-IVANOVA L. N. 1980. Pochvennye vodorosli fitocenozy Sakharo-Gobijskoj pustynnoj oblasti. Nauka, Leningrad, ss. 256.
- [12] RAMSAY A. J., BALL K. T. 1983. Estimation of algae in New Zealand pasture soil and litter by culturing and by chlorophyll „a” extraction. *New Zealand Journal of Science* 26: 493–503.
- [13] SHTINA E. A., ANTIPINA G. S., KOZLOVSKAYA L. S. 1981. Algoflora bolot Karelii i ejo dinamika. Nauka, Leningrad, ss. 272.
- [14] WISHART D. 1969. An algorithm for hierarchical classifications. *Biometrics* 25(1): 165–170.
- [15] ZAKI M. A., SHMIDT V. M. 1972. O sistematičeskoj strukture flor stran južnovo sredizemnomorya. *Vestn. Leningr. Univ.* 9: 57–69.