

## Numerická metoda v taxonomii kvasinek

ANNA KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, Chemický ústav SAV, Bratislava

582.282.232

V taxonomii baktérií se dnes velmi často používá numerické metody, založené na rovnocennosti znaků, která se opírá o Adansonův systém, vypracovaný pro vyšší rostliny asi před 200 lety. Do živé bakteriologické praxe ji zavedl Sneath [1, 2]. Metoda se zakládá na výpočtech podobnosti mezi kmeny, zpravidla zpracovává velké množství kmenů a informací o nich a proto se neobejde bez programovaného počítacího stroje. Obrovské množství zpracovávaných údajů hovoří ve prospěch objektivnosti této metody, a proto se dnes její použití v taxonomii baktérií velmi rozšířilo. Samozřejmě souběžně jde i kritika této metody a jejího použití. To je zcela pochopitelné, když uvážíme, že taxonomie sama jako teoretická disciplína vyžaduje především ujasnění filozofického stanoviska, které by ukázalo pracovníkovi, jak s kterou metodou zacházet, jak ji nevhodněji používat, aby dospěl úspěšně k cíli svého zkoumání. Podrobněji jsem hovořila o filozofických hlediscích, které usměrňují vývojovou a pragmatickou taxonomii mikroorganismů na několika mezinárodních symposiích (Smolenice 1964, Zagreb 1964, Vídeň 1955) a poslední přednáška byla uveřejněna v plném znění [3].

Není pochybností o tom, že s dialekticko-materialistickým přístupem k vědeckému bádání je spjato vývojové pojetí taxonomie. Tato skutečnost, jakož i to, že klasifikační analýza se řídí zákonem „obsaženosti v“ ukazují, že chápání klasifikačních znaků jako rovnocených, je v rozporu s vývojovou taxoniemi. Naskytá se proto otázka, do jaké míry se může numerická taxonomie uplatnit jako metoda pro vývojové pojetí této vědy, aniž by svedla z cesty za přirozeným systémem.

Mykologové používají kvasinek jako výborného nástroje a modelu pro studium biochemie, biofyziky, genetiky, cytologie apod. a sledují hlavně vlastnosti, které se uplatňují v kvasném průmyslu, v medicině, potravinářství, v půdní mikrobiologii apod.

Proto také vlastnosti a klasifikační znaky vycházejí hlavně z požadavků aplikovaných odvětví. Tím už ovšem trpí objektivnost klasifikační metody, která je založena na podobnosti rovnocenných znaků. Když se zvětší počet znaků jednoho druhu, např. biochemických proti morfologickým, dělá se velká náhodná chyba ve výpočtech podobnosti mezi kmeny. U kvasinek, kde klasifikačních znaků není tak mnoho, jako v bakteriologii, a testy jsou mnohem pracnější a zdlouhavější, nebylo dosud použito numerické taxonomie. A přece se ukázala tato metoda při vhodném použití cennou i zde. Její vhodnost vidím v použití ani ne tak při vlastní klasifikaci, jako při zkoumání vztahů mezi kmeny a druhy, nač chci v tomto článku upozornit.

Jak jsem se již zmínila, kvasinky dnes slouží nejen kvazné výrobě jako přímí činitelé, ale také jako modely pro zkoumání nejrůznějších procesů a zákonitostí. Tak jen v biochemickém badatelském výzkumu byly zpracovány desetitisíce experimentů na obchodním pekařském droždí, množství cytologických, cytochemických, sérologických a jiných studií bylo provedeno právě tak na špatně determinovaných, nedeterminovaných nebo biologicky něčistých kmenech, a tím často i velmi přesné a významné studie ztrácejí na vědeckosti pro svoji neopakovatelnost a nekontrolovatelnost a nemohou sloužit za podklad pro usuzování o všeobecných zákonitostech. Když uvážíme, jak často se dnes s kvasinkami pracuje, jistě si představíme nezmírnou proměnlivost kmenů, zaviněnou prostředími a podmínkami a také obrovskou možností křížení nejen mezi kmeny, ale i mezi druhy. V porovnání s tím jistě překvapí časté používání typových kultur, jako porovnávacích, které byly izolovány nejvíce ještě v druhé polovině minulého století. Na tyto typové kultury se vztahuje původní popis a jsou uloženy většinou v Holandsku v Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS). I kdyby tyto typové kultury byly ve sbírce tak vhodně pěstovány, že by nepodlehly ani v nejmenším proměn-

livosti, je důležité, co se s výchozími kmeny od té doby stalo v přírodě, v technologických podmínkách nebo podmínkách parazitismu. Tak jako se technologie mění v podmínkách ekonomie, musí se novým podmínkám přizpůsobit i kmeny. Nejvhodnějším se ukáže ten kmen, který se přizpůsobí kolísání výrobních podmínek a pomáhá vyrobít produkt požadované jakosti. Takové snadno přizpůsobitelné kmeny jsou potom ukazatelně směru vývoje druhu v technických podmínkách.

Kromě těchto samovolně se vyvíjejících kmenů je i mnoho těch, které byly pro nové podmínky cílevědomě vyšlechtěny. Není proto divu, že se vlastnosti těchto kmenů od původních porovnávacích typových kultur v některých směrech odlišují. Proto se zdá být přirozenější používat pro porovnávání raději typických kultur v statistickém slova smyslu. Tyto typické kmeny se mohou přirozeně vybrat jen tam, kde je k dispozici velká množina kmenů téhož druhu, u tzv. velkých druhů. Typický kmen představuje potom statistický průměr vybraný na základě množiny volených vlastností a znaků. Obyčejně, čím je druh obsahově větší, tím bývá plastičejší, tím bývá větší jeho vnitrodruhová variabilita.

Z toho vysvítá, že není lhostejné, který kmen z takové množiny se vezme do práce za daných okolností, má-li zastupovat druh, nebo představovat nejextremnejší formu ap., prostě má-li být přesně definovaný. Takový zdánlivě teoretický průzkum má také svůj velmi praktický dosah. Může se očekávat, že tam kde se druhy formovaly v podmínkách technologií, bude se krýt statistický typ s osvědčenou produkční kulturou v daných podmínkách. Poznání vzájemných vztahů podobnosti mezi kmeny uvnitř druhu, je dobrým vodítkem k uplatnění kmenů v kolísajících nebo změněných podmínkách. K prozkoumání takového vnitrodruhového polymorfismu a vztahů mezi kmeny se může použít i numerické metody.

### Numerická metoda

#### Výpočty podobnosti

Podobnost se vypočte podle vzorce [1, 2, 4]:

$$S \% = \frac{n_s}{n_s + n_d} \cdot 100$$

přitom  $S\%$  znamená podobnost,  $n_s$  počet pozitivních znaků u obou porovnávaných kmenů,  $n_d$  počet pozitivních znaků u prvého kmene, ale negativních u druhého a počet pozitivních znaků u druhého kmene, ale negativního u prvního. Např.:

	Morfolo-gický znak pseudomycelium	Fyziolo-gický znak spory	Bioche-mický znak asimilace malto-triózy	Sérolo-gický znak antígen „C“
<i>Sacch. carlsbergensis</i>	—	+	+	+
<i>Sacch. cerevisiae var. ellipsoideus</i>	+	+	—	—
<i>Sacch. logos</i>	+	+	+	+

Označení kmenů: *Sacch. carlsbergensis* 1, *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* 2, *Sacch. logos* 3

#### Výpočet podobnosti

Výpočet $n_s$ :	1	2	3
1	3	1	2
2		2	2
3			3

Výpočet $n_d$ :	1	2	3
1	0	3	2
2		0	1
3			0

Výpočet $n_s + n_d$ :	1	2	3
1	3	4	4
2		2	3
3			3

Výpočet $\frac{n_s}{n_s + n_d}$ :	1	2	3
1	1	1/4	2/4
2		1	2/3
3			1

Výpočet $S\%$ :	1	2	3
1	100	25	50
2		100	66
			100

Na základě těchto čtyř vlastností je mezi *Sacch. carlsbergensis* a *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* 25% podobnost, mezi *Sacch. carlsbergensis* a *Sacch. logos* 50% a mezi *Sacch. logos* a *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* 36%.

Při porovnávání kmenů uvnitř téhož druhu jsou mnohdy důležité i kvantitativní stupně určitých znaků. S výhodou zde používáme kódování, při němž zavádíme kromě pozitivního a negativního znaku ještě znak *N*. Tento znak *N* neporovnáváme s žádným jiným v téže sloupci. To má některé výhody, především tu, že jeho vsazení do kódu umožní regulovat rovnoměrně vztahy podobnosti mezi jednotlivými stupni dané vlastnosti, jak ukazují příklady.

#### Příklad 1

Kód pro danou vlastnost		Podobnosti mezi stupni dané vlastnosti			
Kvantitativní stupeň	Kód	Kvantitativní stupeň A B C D			
A	+	+	—	—	—
B	+	N	+	—	—
C	+	N	N	+	—
D	+	N	N	N	+

Bez zavedení znaku *N* by tento příklad měl nepravidelné odstupňování podobnosti mezi jednotlivými stupni dané vlastnosti:

Kód pro danou vlastnost		Podobnosti mezi stupni dané vlastnosti			
Kvantitativní stupeň	Kód	Kvantitativní stupeň A B C D			
A	+	—	—	—	A
B	+	+	—	—	B
C	+	+	+	—	C
D	+	+	+	+	D

Jestliže vlastnost, kterou posuzujeme není odstupňována, ale projevuje se na venek různě, např. vzhled obrovské kolonie nebo posuzování sedimentace kvasinek ap., použijeme takový typ kódování, kde nejsou žádné vztahy podobnosti, jak ukazuje příklad druhý.

### Příklad 2

Kód pro danou vlastnost		Podobnosti mezi vlastnostmi		
Vlastnost	Kód	Vlastnost	A	B
A	+	N	100	0
B	N	+	0	100
C	N	N	+	100

Použití znaku *N* umožňuje zařadit do kódovacích tabulek i takový případ, kde některá vlastnost nebyla zkoumána anebo se nedala posoudit jednoznačně jako pozitivní nebo negativní. Tak např. u kmene 26-34-1 nebyly zjištěny všechny vlastnosti takže může být porovnáván s ostatními kmeny jen v těch vlastnostech, které byly vyhodnoceny. Proto např. v sloupcích 17-19 v tabulce 1 tento kmen v řádce 28 má *N N N*, což znamená, že jeho obrovská kolonie není posuzována.

Kódy si můžeme libovolně volit a upravovat tak, abychom vztahy mezi stupni udržovali v pravidelné podobnosti a vyjadřovali je logicky. Tam, kde daný znak v každém případě existuje, má však různou hodnotu nebo rozdíl, sestavujeme kód tak, aby první sloupec byl zastoupen pozitivními znaky, např. u rozdílu buněk a jiných biometrických hodnot. Tam, kde první stupeň vyjadřuje chybění zna-

ku, např. kmen nesporuluje, netvoří pseudomycelium, nesedimentuje ap., tam musí být vyjádřen tak, aby mezi tímto stupněm a ostatními nebyl vztah podobnosti.

### Příklad 3

Kód pro danou vlastnost		Podobnosti mezi stupni dané vlastnosti			
Kvantitativní stupeň	Kód	Kvantitativní stupeň	A	B	C
A	-	N	100	0	0
B	+	-	100	50	50
C	+	+	-	100	50
D	+	N	+	-	100

Tak např. v tabulce 1 jsme použili tohoto způsobu kódování:

Čísla  
v řádcích

Vlastnost a použitý kód	
1-5 Délkošírkový poměr buněk:	
pod 1,1	+
od 1,1 do 1,2	+
od 1,2 do 1,3	+
vyšší než 1,3	+
6-10 Kvocient povrch/objem buněk:	
menší než 1	+
rovný 1	+
větší než 1 a	-
menší než 1,5	+
větší než 1,5	+
11-14 Korelační koeficient délky a šířky:	
do 40 %	+
od 40 % do 75 %	+
nad 75 %	+
15-16 Pseudomycelium:	
Žádné (A)	-
Slabé (B)	+

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
1. 48-78	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	+	+	+	N	N	-	-	+	-	+	+	+	+	+	N	N	+				
2. 21-1-1	+	N	N	N	+	+	N	N	N	+	+	+	+	N	N	-	-	+	-	+	+	+	+	+	N	N	+				
3. 48-54	+	N	N	N	+	+	-	-	-	+	N	+	-	+	+	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+				
4. 48-63	+	N	+	-	+	+	-	-	-	+	N	+	-	-	N	+	N	N	-	-	+	-	+	+	N	N	+				
5. 48-19	+	+	-	-	+	N	+	-	-	+	N	N	+	-	N	+	N	N	-	-	+	-	+	+	N	N	+				
6. 21-4-26	+	N	+	-	-	+	N	N	+	-	N	+	N	N	-	-	N	N	+	-	+	-	+	+	N	N	+				
7. 21-4-17	+	N	+	-	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	-	-	+	-	+	-	+	N	N	+				
8. 21-4-14	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	+	+	-	-	N	+	N	N	-	-	+	-	+	+	N	N	+				
9. 21-45-1	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	+	+	-	+	N	N	-	-	+	-	+	-	+	N	N	+				
10. 28-33	+	N	N	N	+	+	N	+	-	-	N	N	+	-	-	N	N	+	-	+	-	+	-	+	N	N	+				
11. 28-108	+	N	+	-	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	-	-	+	-	+	-	+	N	N	+				
12. 28-10	+	+	-	-	+	N	N	+	-	+	N	N	+	-	+	N	N	-	-	+	-	+	-	+	N	N	+				
13. 21-21-15	+	N	+	-	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	-	-	+	-	+	-	+	N	N	+				
14. 21-21-6	+	N	N	+	-	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	+				
15. 21-21-9	+	N	N	+	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
16. 21-6-2	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+				
17. 21-15-2	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	-	-	+	-	+	-	+	N	N	+				
18. 21-15-5	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
19. 21-31-2	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
20. 35-7-2	+	N	+	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
21. 35-8-2	+	+	-	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
22. 21-34-1	+	N	+	-	-	+	N	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	+				
23. 26-7-1	+	+	-	-	+	N	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
24. 26-7-2	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
25. 26-15-2	+	N	+	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	-	+	N	N	+				
26. 26-37-1	+	N	+	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	-	+	N	N	+				
27. 26-42-1	+	+	-	-	+	N	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
28. 26-34-1	+	N	N	N	+	+	N	N	N	+	-	N	N	N	-	N	N	+	-	N	N	+	-	+	N	N	+				
29. 26-50-1	+	+	-	-	+	N	N	N	+	-	N	N	N	+	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
30. 29-14-3	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
31. 29-12-1	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
32. 29-45-1	+	N	N	+	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
33. 29-60-1	+	N	N	N	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
34. 29-7-6	+	N	+	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+						
35. 29-7-12	+	N	N	+	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
36. 29-7-17	+	N	N	+	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+					
37. 29-6-1	+	N	+	-	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N	-	-	N	N	+	-	+	N	N	+						

Tabulka 1

## Pokračování tabulky 1

	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64
1. 48-78	+	N	+	-	+	+	-	N	N	+	-	N	+	-	+	+	-	-	+	N	+	-	+	-	N	N							
2. 21-1-1	+	+	-	+	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	+	+	-	+	N	+	-	N	N	+	+	-	N	N				
3. 48-54	+	N	+	-	+	+	-	N	N	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	N	+	-	N	N	+	-	N	N					
4. 48-63	+	N	+	-	+	+	-	N	N	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	N	+	-	N	N	+	-	N	N					
5. 48-19	+	N	+	-	+	+	-	N	N	-	N	-	N	-	N	+	-	-	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N					
6. 21-4-26	+	+	-	+	+	+	-	N	+	N	-	N	-	N	+	-	+	+	-	N	+	+	N	N	+	+	-	N	N				
7. 21-4-17	+	+	-	+	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	+	+	-	+	N	+	-	N	N	+	-	N	N					
8. 21-4-14	+	N	N	+	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N					
9. 21-45-1	+	N	+	-	+	+	-	+	-	N	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N					
10. 28-33	+	+	-	+	+	+	-	N	-	N	+	+	+	+	-	+	+	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
11. 28-108	+	+	-	+	+	+	-	N	-	N	+	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
12. 28-10	+	+	-	+	+	+	-	N	-	N	+	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
13. 21-21-15	+	+	-	+	+	+	-	N	N	-	N	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
14. 21-21-6	+	+	-	+	+	+	-	N	N	-	N	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
15. 21-21-9	+	+	-	+	+	+	-	N	+	N	-	N	-	N	+	+	+	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
16. 21-6-2	+	+	-	+	+	+	-	N	N	-	N	-	N	-	+	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
17. 21-15-2	+	N	+	-	+	+	-	N	-	N	+	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
18. 21-15-5	+	+	-	+	+	+	-	N	N	-	N	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
19. 21-31-2	+	N	+	-	+	+	-	N	N	-	N	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
20. 35-7-2	+	+	-	+	+	+	-	N	N	-	N	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
21. 35-8-2	-	N	+	-	+	+	-	N	-	N	+	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
22. 21-34-1	-	-	-	+	-	+	-	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
23. 26-7-1	+	-	-	-	-	-	-	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
24. 26-7-2	-	+	-	-	-	-	-	N	N	-	N	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
25. 26-15-2	-	-	+	-	+	+	-	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
26. 26-37-1	-	-	-	-	-	-	-	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
27. 26-42-1	-	-	-	-	-	-	-	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
28. 26-34-1	+	+	-	-	-	-	-	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
29. 26-50-1	+	+	-	-	-	-	-	N	N	-	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N			
30. 29-14-3	-	+	+	-	+	+	-	N	N	-	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	N	N			
31. 29-12-1	-	N	+	-	+	+	-	N	N	-	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	N	N			
32. 29-45-1	-	+	+	-	+	+	-	N	N	-	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	N	N			
33. 29-60-1	-	+	+	-	+	+	-	N	N	-	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	N	N			
34. 29-7-6	-	+	+	-	+	+	-	N	N	-	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	N	N			
35. 29-7-12	-	+	+	-	+	+	-	N	N	-	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	N	N			
36. 29-7-17	-	+	+	-	+	+	-	N	N	-	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	-	-	N	N	-	-	N	N			
37. 29-6-1	N	+	-	+	-	+	-	N	-	N	-	N	-	N	-	-	-	-	N	N	-	-	N	N	-	-	N	N					

## Pokračování tabulky 1

	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
1. 48-78	+	+	+	-	+	N	+	+	-	+	-	N	+	+	-	+	+	-	+	N	+	-	+	+	-	N	N				
2. 21-1-1	-	+	+	-	+	N	+	-	+	N	+	N	+	+	-	+	N	+	-	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N		
3. 48-54	-	+	+	-	+	+	-	N	N	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	N	+	-	N	N	+	-	N	N			
4. 48-63	-	+	+	-	+	+	-	N	N	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	N	+	-	N	N	+	-	N	N			
5. 48-19	-	+	+	-	+	N	+	-	N	N	+	-	N	-	N	+	-	+	+	N	+	-	N	N	+	-	N	N			
6. 21-4-26	-	+	+	-	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
7. 21-4-17	-	+	+	-	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
8. 21-4-14	-	+	+	-	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
9. 21-45-1	-	+	+	-	+	+	-	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
10. 28-33	+	+	-	+	+	N	+	-	N	N	+	-	N	-	N	+	-	+	+	N	N	+	-	N	N	+	-	N	N		
11. 28-108	-	+	+	-	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
12. 28-10	-	+	+	-	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
13. 21-21-15	-	-	-	-	-	-	-	N	N	-	N	N	-	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
14. 21-21-6	-	-	-	-	-	-	-	N	N	-	N	N	-	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
15. 21-21-9	-	-	-	-	-	-	-	N	+	N	-	N	+	N	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
16. 21-6-2	-	+	+	-	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
17. 21-15-2	-	+	+	-	+	+	-	N	-	N	+	-	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
18. 21-15-5	-	N	+	-	+	N	+	-	N	N	+	-	N	-	N	+	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
19. 21-31-2	-	-	-	-	N	N	-	N	N	+	-	N	-	N	+	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
20. 35-7-2	-	+	+	-	+	+	-	N	N	-	N	+	+	+	-	-	-	-	N	N	+	-	-	-	N	N	+	-	N	N	
21. 35-8-2	-	N	+	-	+	+	-	N	-	N	+</																				

17-19	Stromečkovité (D)	+	+		72-74	kvasí do 3/3	+	N	+
	<i>Obrovské kolonie:</i>					<i>Aktivita dehydrogenazy etanolu:</i>			
	Hladké (S)	+	N	N		indikátor se neod-			
	Matné (SR)	N	+	N		barvuje	-	N	N
	Drsné (R)	N	N	+		odbarvuje se slabě	+	-	-
20	<i>Asimilace dusičnanu draselného</i>					odbarvuje se			
21	<i>Asimilace d-lysínu</i>					po 2 h	+	+	-
22-24	<i>Sporulace:</i>					odbarví se po 1 h	+	N	+
	Žádná	-	N	N		<i>Aktivita dehydrogenazy kyseliny mléčné</i>			
	do 5 %	+	-	-		[jako předešlý]			
	od 5 % do 20 %	+	+	-		<i>Aktivita dehydrogenazy kyseliny jantarové</i>			
	nad 20 %	+	N	+		[jako předešlý]			
25-27	<i>Asimilace etanolu, etylenglyku a glycerolu</i>					<i>Aktivita dehydrogenazy kyseliny octové</i>			
28-31	<i>Respirační kvocient glukózy RQ:</i>					[jako předešlý]			
	Menší než 1	+	+	-		<i>Aktivita dehydrogenazy kyseliny jablečné</i>			
	větší než 1 a					[jako předešlý]			
	menší než 2	+	N	+		<i>Redukce metylénové modři:</i>			
	větší než 2	+	N	N		neodbarvuje se	-	N	N
32-35	<i>Respirační kvocient galaktózy RQ:</i>					odbarvuje se déle			
	menší než 1 (anebo					než za 2 h	+	-	
	rovný s endogenním					odbarvuje se slabě			
	metabolismem)	+	+	-		už za 1-2 h	+	+	-
	větší než 1 a					odbarvuje se za 1 h	+	N	+
	menší než 2	+	N	+		<i>Redukce TTC</i>			
	větší než 2	+	N	N		[jako předešlý]			
36-38	<i>Růst při teplotě 5 °C:</i>					<i>Redukce titioninu</i>			
	Neroste	-	N	N		[jako předešlý]			
	slabě roste	+	-	-		<i>Kmeny použité v tabulce 1</i>			
	dobře roste	+	+	-					
	optimálně roste	+	N	+	21-1-1	<i>Saccharomyces logos</i> , Výzkumný ústav pivovarský, Praha 1943			
39-41	<i>Růst při 40 °C</i>				48-78	<i>Saccharomyces uvarum</i> , ATCC 1959, Biologický ústav ČSAV, Praha č. 00323/1			
	jako předešlý kód				48-63	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> , Bratislava „B-S“, 1958-62, střední typ			
42-43	<i>Ztekucování želatiny:</i>				48-19	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> , Plzeň 1950, malý typ			
	žádné	-	N		48-54	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> , Plzeň 1952, velký typ			
	slabé	+	-		21-4-14	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , Kvasný průmysl, Trenčín, E. Piš, „Čukarica“, 1954, velký typ			
	dobré	+	+		21-4-26	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , před tím <i>Sacch. anamensis</i> , „Amyloprocess yeast“, ATCC 4126, 1957, střední typ			
44-45	<i>Štěpení eskulínu:</i>				21-4-17	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , Kvasný průmysl Trenčín, E. Piš, rasa IV anglická, 1954			
	žádné	-	N		21-45-1	<i>Saccharomyces diastaticus</i> , CBS 1782, 1964			
	slabé	+	-		28-10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>ellipsoideus</i> , Kolachov P., Louisville USA, 1947, malobuňkový kmen			
	dobré	+	+		28-108	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>ellipsoideus</i> , Magarač, Jalta Krym SSSR, kmen Kavkazskaja, 1958, střední kmen			
46-47	<i>Redukce seleničitanu:</i>				28-33	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>ellipsoideus</i> , VÚOZ, Praha, kmen Champagne, 1950, velkobuňkový kmen			
	jako u předešlého				21-15-2	<i>Saccharomyces willianus</i> , IZ Brazilie, 1957			
48-49	<i>Redukce teluričitanu:</i>				21-21-6	<i>Saccharomyces oviformis</i> , malobuňkový kmen, izolovaný z vinných kvasinek			
	jako u předešlého				21-21-15	<i>Saccharomyces oviformis</i> , izolovaný z vinných kvasinek			
50-51	<i>Test s kyselinou fosfomolybdénovou:</i>				21-21-9	<i>Saccharomyces oviformis</i> , izolovaný z vinných kvasinek			
	bledémordý	+	-		21-15-5	<i>Saccharomyces bayanus</i> , původně <i>Sacch. willianus</i> , ATCC 1957, Biologický ústav ČSAV 328/1			
	tmavomordý	+	+		21-6-2	<i>Saccharomyces pastorianus</i> , CBS 1947			
52-53	<i>Asimilace celobiózy a salicinu</i>				21-31-2	<i>Saccharomyces heterogenicus</i> , CBS 715, 1961			
54-56	<i>Potřeba vitamínu podle rozmnожování na prostředí bez vitamínu a aminokyselin:</i>				35-7-2	<i>Saccharomyces fermentati</i> , původně <i>Sacch. florentinus</i> , Kocková 1958			
	už po 3. přeroc-				35-8-2	<i>Saccharomyces fermentati</i> , Biologický ústav ČSAV č. 0325, 1963			
	kování neroste	-	N	N	21-34-2	<i>Saccharomyces veronae</i> , CBS 459, 1964			
	neroste po 4. př.	+	-	-	26-7-1	<i>Torulopsis colliculosa</i> , CBS 1947			
	neroste po 5. př.	+	+	-	26-15-2	<i>Torulopsis sake</i> , CBS 159, 1964			
	roste i po 6. př.	+	N	+	26-37-1	<i>Torulopsis globosa</i> , CBS 162, 1964			
57-59	<i>Vysýchavost kultur; podle ztráty životaschopnosti:</i>				26-34-1	<i>Torulopsis cylindrica</i> , CBS 1947, 1964			
	po 2 týdnech	-	N	N	26-50-1	<i>Torulopsis versatilis</i> , CBS 1752, 1964			
	po 4 týdnech	+	-	-	29-14-3	<i>Candida robusta</i> , N. v. Uden, Lisboa, Portugalsko 1962			
	po 5 týdnech	+	+	-	29-7-6	<i>Candida tropicalis</i> , Biologický ústav ČSAV, Praha 1965, původně <i>Torulopsis murmanica</i>			
	roste i po 6 týdnech	+	N	+					
60-64	<i>Anaerobióza a aerobióza:</i>								
	1. Prokvašení od								
	spodu	+	+						
	růst od spodu	+	-						
	růst od vrchu	-	N						
	2. Neroste od vrchu	-	N	N					
	roste od vrchu								
	1 cm hluboko	+	--	-					
	roste od vrchu								
	2 cm hluboko	+	+	-					
	roste ještě								
	hlouběji	+	N	+					
65	<i>Tvorba kyseliny mléčné</i>								
66	<i>Kvašení galaktózy</i>								
67	<i>Asimilace galaktózy</i>								
68	<i>Asimilace maltotriózy</i>								
69-71	<i>Kvašení rafinózy:</i>								
	nekvaší	-	N	N					
	kvaší do 1/3	+	-	-					
	kvaší do 2/3	+	+	-					

- 29-7-12 *Candida tropicalis*, M. Petrů, vaginální mykóza, Praha 1958  
 29-7-17 *Candida tropicalis*, M. Petrů, vaginální mykóza, Praha 1958  
 29-6-1 *Candida pelliculosa*, CBS 1944  
 29-12-1 *Candida intermedia*, B. A. Bourne ATCC 12089, 1959  
 29-60-1 *Candida obtusa*, N. v. Uden, Lisboa, Portugalsko, 1962  
 29-45-1 *Candida langeroni*, N. v. Uden, Lisboa, Portugalsko, 1962

Kromě uvedených vlastností v tabulce 1 měly zkoumané kleny základní kvasný diagram stejný:

1. Kvasily glukózu, mannózu, fruktózu, maltózu, sacharózu.

## 2. Nekvasilv laktózu.

Uvedená tabulka je příkladem souhrnu podkladů pro rozlišení zástupců čtyř rodů: *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Torulopsis* a *Candida*, které mají hlavní biochemickou charakteristiku podobnou. Pokusíme-li se o výpočty podobností, zjistíme, že na základě rovnocennosti znaků nedospějeme k očekávaným výsledkům. Tak např. se ukáže, že mezi *Saccharomyces carlsbergensis* a *Candida tropicalis* lze vypočítat ještě 56% podobnost, mezi velkobuňkovou formou *Sacch. carlsbergensis* a *Sacch. logos*, kde bychom očekávali podobnost těsnou je tato jen 76%.

Tomuto nedostatku uvedené metody při třídění druhů různých rodů se lze vyhnout, jestliže rozšíříme nejprve znaky podle jejich významu na:

1. Znaky rodové a vyšších tax;
  2. Znaky druhové;
  3. Znaky na úrovni vnitrodruhové.

Podle znaků rodových a vyšších tax lze utvořit vnější kostru pro trojúhelník podobnosti, podle znaků druhových podrobnější vnitřní rozčlenování a na úrovni vnitrodruhové provést vlastní výpočty a uspořádání podle těsnosti vztahů. Za znaky druhové pokládáme ty, které jsou společné všem kmenům toho druhu, za znaky rodové ty, které jsou společné všem druhům jednoho rodu. Znaky druhovými se liší jednotlivé druhy uvnitř rodu, znaky rodovými se liší jednotlivé rody uvnitř čeledí. Tak např. z uvedené tabulky kódů musí být především

vysazena do popředí vlastnost, týkající se sporulace, protože tato náleží vyším taxám. Dále se ukázalo, že velmi důležitou vlastností je např. stupeň kvašení rafinózy, protože koreluje s řadou jiných, také důležitých vlastností, a to nejen u rodu *Saccharomyces*, ale i u rodu *Candida*.

Jak jsem se již zmínila na začátku, hodí se dobré numerická metoda pro posuzování vnitrodruhové variability anebo pro hodnocení vztahů u druhů velmi blízkých. *Tabulka 2* ukazuje, jak možno seskupit kmeny podle podobnosti. Tato tabulka je sestavena podle kódování, uvedeného v *tabulce 3*.

### Kodování znaků v tabulce 3:

- |         |   |
|---------|---|
| 1—5     | poměr délky a šířky buněk                     |
| 6—10    | kvocient povrch/objem                         |
| 11—14   | korelační koeficient délky a šířky buněk      |
| 15—16   | pseudomycelium                                |
| 17—19   | obrovské kolonie                              |
| 20 a 21 | osmofilnost                                   |
| 22—25   | tolerance k etanolu                           |
| 26      | asimilace trehalózy                           |
| 27      | asimilace celobiózy                           |
| 28      | asimilace manitu                              |
| 29      | asimilace inulinu                             |
| 30      | asimilace dulcitu                             |
| 31      | asimilace d-lysinu                            |
| 32      | asimilace maltotriózy                         |
| 33—35   | sporulace                                     |
| 36      | aglutinace buněk se sérem proti kmenu 28—108  |
| 37      | aglutinace buněk se sérem proti kmenu 21—15—2 |

### Přehled kmenů, použitých při tomto třídění:

- 21-29- *Saccharomyces formosensis*, původem z Technologického ústavu v Tajvane (prof. dr. P. Nemec), 1956  
 28-70 Doc. inž. E. Minárik, kmen Malá třňa, muškát žlutý, 1954  
 21-14-1 *Saccharomyces cartilaginosus* Lindner, CBS, 1947  
 21-7-1 *Saccharomyces intermedius* Hansen, CBS, 1947  
 21-15-6 Vysoká škola chemickotechnologická, Praha, 1951, jako *Saccharomyces willianus* Sacc.  
 21-28-1 *Saccharomyces odessa* Schnegg et Oehlkers, CBS, 1948  
 21-15-4 *Saccharomyces willianus* Saccardo, ATCC, 1957  
 21-18-1 *Saccharomyces tubiformis* Osterwalder, CBS, 1948  
 21-15-2 *Saccharomyces willianus* Saccardo, IZ, Brazilië, 1957  
 21-13-2 *Saccharomyces bayanus* Sacc., doc. inž. E. Minárik, Bratislava, 1964

*Tabulka 2*

- 28-31 vinná kvasinka, kmen „Mělník-Bourgogne“, Výzkumný ústav pro ovoce a zeleninu, Praha  
28-53 vinná kvasinka, kmen „Eger 1“, Budapešť 1954  
28-99 vinná kvasinka, kmen „Maienfeld 1“, doc. inž. E. Minářík, 1958  
28-8 vinná kvasinka, kmen „Nevrocop“, prof. dr. B. Hampl, 1943  
28-108 vinná kvasinka, kmen „Kavkazskaja“, Magarč, Jalta, Krym, SSSR, 1958  
28-22 vinná kvasinka, kmen „Champagne“, Výzkumný ústav pro ovoce a zeleninu, Praha 1950  
21-4-43 *Saccharomyces turbidans*, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha 1951  
21-4-11 *Saccharomyces marshallanus* (Kuff.) Dekker, Carlsberg Laboratorium, Copenhagen 1947  
28-135 vinná kvasinka, kmen „Sudak VI-5“, Jalta, Krym, SSSR, 1958  
21-4-13 *Saccharomyces cerevisiae rasa XII*, Trenčín 1954  
22-3-33 7 R, izolát Lindgrena z DCL, Bratislava 1961  
21-4-15 *Saccharomyces cerevisiae rasa M*, Trenčín 1954  
21-4-26 *Saccharomyces anamensis*, kmen „Amyloprocess yeast“, 1957 ATCC 4126

Kmeny použité v tabulce 2 k zkoumání vztahů podobnosti mají významné biochemické znaky společné:

1. Kvašení maltózy a sacharózy (II. kvasný typ);
2. Kvašení galaktózy;
3. Kvašení rafinózy do 1/3;
4. Neschopnost asimilovat a kvasit laktózu;
5. Neschopnost asimilovat dusičnan draselný;
6. Asimilace etanolu a glycerolu.

Proto tyto znaky jsou vyloučeny z klasifikace. Hlavním vodítkem k rozlišení skupin jsou znaky morfologické, ať už jsou to přímo tvary buněk, nebo tvorba pseudomycelia na okraji kolonií, anebo vzhled obrovských kolonií. Kromě toho k rozlišení skupin přispívá ještě několik jiných znaků, jako např. schopnost využívat maltotriózu nebo charakter sérologický. Tak byly rozlišeny tři skupiny:

1. 1—10 kmeny s buňkami protáhlými, s délkošírkovým poměrem buněk větším než 1,3.
2. 11—17 kmeny s buňkami oválnými až protáhlými.
3. 18—23 kmeny s buňkami středně oválnými.

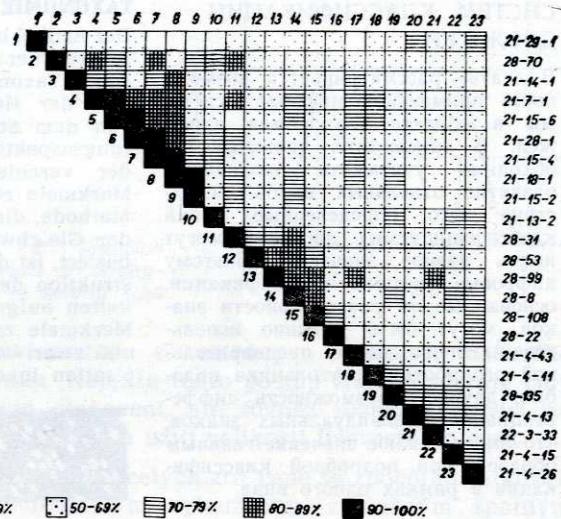
Tyto tři skupiny reprezentují druhy:

1. *Saccharomyces willianus* Saccardo
2. *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* Stell.-Dekker
3. *Saccharomyces cerevisiae* Hansen.

Tyto tři skupiny ukazují na přirozený vývoj druhů z podmínek přírodních až do podmínek technologických (*Sacch. willianus* → *Sacch. cerevisiae*). Jednotlivé skupiny tvoří uzly na línii tohoto vývoje.

Numerická metoda má dokonce v takovémto případě velmi důležitý význam. Ukazuje, že je možno na základě podobnosti shrnout do jedné skupiny — jednoho druhu, více samostatných taxonomických jednotek, jako synonymní druhy. Např. v první skupině mají těsnou podobnost *Saccharomyces willianus*, *Saccharomyces cartilaginosus*, *Sacch. in-*

Tabulka 3



*termedius*, *Sacch. odessa*, *Sacch. tubiformis* apod., které možno označit jako synonyma druhu *Sacch. willianus* Sacc. Pokusili jsme se ověřit některé takové kmeny v podmírkách různých technologií [5, 6, 7] a ukázala se dokonalá shoda s výsledky, které poskytla numerická metoda v předběžné klasifikaci. Má-li však sloužit také při výběru produkčních kmenů, je třeba vycházet přitom také z vlastností a znaků, které si kmeny získávají, adaptací a selekcí v podmírkách technologií. Numerická metoda pomáhá tedy při klasifikaci a při zjednodušování identifikace tam, kde nastalo v minulosti nadměrné drobení v samostatné druhy.

Máme-li nakonec posoudit užitečnost uvedené metody, je třeba zdůraznit, že její prospěšnost velmi závisí na tom, jak volíme znaky, z jakého filosofického hlediska vycházíme a k jakému cíli metodu použijeme.

#### Souhrn

V článku se hovoří o možnostech uplatnění numerické taxonomie v klasifikaci kvasinek. Vycházíme-li však z vývojového hlediska, počítáme nutně s různým významem znaků. Proto numerická metoda, založená na rovnocennosti znaků, se dá vhodně uplatnit až po konstrukčním uspořádání trojúhelníka podobnosti na základě významnějších znaků, hlavně pro vnitrodruhovou typizaci.

#### Literatura

- [1] Sneath, P. H. A.: The Application of Computers to Taxonomy. = „J. Gen. Microbiol.“, 17, 1957: 201.
- [2] Sneath, P. H. A.: Some Thoughts on Bacterial Classification. = „J. Gen. Microbiol.“, 17, 1957: 184.
- [3] Kocková-Kratochvílová, A.: Probleme auf dem Gebiet der Hefesematik. = „Mitteilungen“, 19, 1965: 63—75 (Wien).
- [4] Kocková-Kratochvílová, A. — Šandula, J. — Vojtková-Lepšíková, A.: The Genus *Candida* Berkhou. III. Intermediate forms between fermentation type I and II. = „Folia microbiologica“, 8, 1963: 342—350.
- [5] Minářík, E. — Kocková-Kratochvílová, A. — Laho, L.: Nachprüfung der taxonomischen Zugehörigkeit von Weinhefen und verwandten Arten. = „Die Weinwissenschaft“, 20, 1965: 193—205.
- [6] Kocková-Kratochvílová, A. — Stuchlík, V. jr. — Tomášek, K.: Bewertung einiger atypischen Hefestämme unter technologischen Bedingungen der Bierbereitung. = „Brauwissenschaft“, 18, 1965: 328—345.
- [7] Kocková-Kratochvílová, A. — Sedlářová, L. — Pokorná, M.: Overenie príbuznosti k druhu *Saccharomyces cerevisiae* Hansen technologicky dôležitým testom. = „Biologia“, 21, 1966: 19.

**ПРИМЕНЕНИЕ ЦИФРОВЫХ СИСТЕМ КЛАССИФИКАЦИИ ДРОЖЖЕЙ**

В статье рассматривается возможность применения цифровой системы в области таксономии дрожжей. В таксономии дрожжей необходимо учитывать дальнейшее развитие отдельных видов, вследствие чего определенные знаки классифицируемых дрожжей могут иметь разное значение. Поэтому цифровые системы классификации, основанные на равносильности знаков, могут быть успешно использованы лишь после предварительной разработки треугольника подобия, дающего возможность дифференциации индивидуальных знаков, что имеет важное значение главным образом при подробной классификации в рамках одного вида.

**NUMERISCHE METHODE IN DER TAXONOMIE DER HEFEN**

Der Artikel befasst sich mit der Möglichkeit der Applikation der numerischen Taxonomie bei der Klassifikation der Hefe. Wenn man jedoch von dem Standpunkt des Entwicklungsaspekts ausgeht, muss man mit der verschiedenen Bedeutung der Merkmale rechnen. Die numerische Methode, die auf der Voraussetzung der Gleichwertigkeit der Merkmale basiert, ist daher erst nach der Konstruktion des Dreiecks der Ähnlichkeiten aufgrund der bedeutenderen Merkmale zur Applikation geeignet, und zwar hauptsächlich für die Typisation innerhalb der Hefearten.



**APPLICATION OF NUMERICAL METHODS IN THE TAXONOMY OF YEAST**

The article deals with the possibilities offered by numerical classification methods and analyses the prospects for their application in the taxonomy of yeast. Taxonomy must express also dynamic phenomena of development and in this sphere individual, and practically identical, features and signs may have very different importance. Consequently numerical systems must be duly adapted by developing a comprehensive system of similarity triangles for important attributes this being necessary especially for detailed classification within the frame of one species.