

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Studium pěstebních podmínek nového křížence z rodu
Pleurotus nazvaného Black Pearl**

Diplomová práce

Ing. Leonardo Astol

Program studia: Ekologické zemědělství

Vedoucí práce: Ing. Ivan Jablonský, CSc.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Studium pěstebních podmínek nového křížence z rodu *Pleurotus* nazvaného Black pearl" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19. dubna 2024

Poděkování

S hlubokou vděčností bych chtěl vyjádřit své upřímné poděkování svému vedoucímu práce, Ing. Ivanu Jablonskému, CSc., za jeho neocenitelné rady a poskytnuté materiály. Jsem mu vděčný za čas, který mi věnoval, aby bylo dosaženo co nejlepšího výsledku, a za jeho nekonečnou trpělivost, kterou prokázal během naší spolupráce.

Dále bych rád poděkoval své rodině za jejich neustálou podporu a trpělivost během mého studia. Jejich podpora byla pro mě zdrojem síly a motivace. Děkuji vám.

Studium pěstebních podmínek nového křížence hlívy z rodu *Pleurotus* nazvaného Black Pearl

Souhrn

Rod *Pleurotus* – hlíva patří mezi nejrozšířenější pěstované houby ve světě. Její pěstování je nejvíce rozšířeno v Jihozápadní Asii, a to zejména v Číně. Rozšířil se i sortiment různých druhů hlív, a to podle klimatických podmínek i podle chuti jednotlivých národů. Hlívy se liší nejen klimatickými požadavky, ale i barvou a tvarem plodnic. Výrazně odlišnou skupinou hlív ohledně požadavků na složení a přípravu substrátu tvoří skupina hlívy máčkové (*Pleurotus eryngii*).

Před několika léty skupina japonských vědců při křížení hlívy ústřičné (*Pleurotus ostreatus*) a několika kmeny z podskupiny *Pleurotus eryngii* získali dva křížence z nichž jeden byl pojmenován jako Black Pearl. Plodnice tohoto hybridu za určitých podmínek připomínají svým tvarem i texturou plodnice *Pleurotus eryngii*. Výhodou této kultury je, že příprava substrátu ze slámy včetně jeho ošetření při nízké pasterizační teplotě shodná s přípravou substrátu pro hlívu ústřičnou.

Protože s výjimkou patentu zmiňujícího výsledek šlechtění Black Pearl není k dispozici žádná odborná či vědecká literatura o tomto hybridu. Zkušenosti s pěstováním si vyměňují pouze drobní amatérští pěstitelé. Proto jsme se zaměřili na podrobnější studium tohoto hybridu. Zjistili jsme optimální požadavky na teplotu mycelia během růstu, porovnali jsme požadavky Black Pearl (dále BP) s jeho rodičovskými druhy, sledovali výnos při různém složení substrátu, složení plodnic a formu jednotlivých parcel zajišťující tvorbu velkých a jednotlivých plodnic

Klíčová slova: Hlíva, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus* cv. Black Pearl substráty, sójové slupky, výnos

A study of the growing conditions of a new hybrid of the *Pleurotus* genus called Black Pearl

Key words

Mushrooms, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus* cv. Black pearl, substrates, soybean husks, yield

Summary

The genus *Pleurotus* - mushroom belongs to the most widely cultivated mushrooms in the world. Its cultivation is most widespread in Southwest Asia, especially in China. The assortment of different types of mushrooms has also expanded, depending on the climatic conditions and the taste of individual nations. Mushrooms differ not only in climatic requirements, but also in the color and shape of the fruiting bodies. A significantly different group of mushrooms with regard to the requirements for the composition and preparation of the substrate is the group of Cardoncello mushrooms (*Pleurotus eryngii*).

A few years ago, a group of Japanese scientists crossed the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and several strains from the *Pleurotus eryngii* subgroup and obtained two hybrids, one of which was named Black Pearl. Under certain conditions, the fruitbodies of this hybrid resemble the fruitbodies of *Pleurotus eryngii* in their shape and texture. The advantage of this culture is that the preparation of the substrate from straw, including its treatment at a low pasteurization temperature, is identical to the preparation of the substrate for oyster mushrooms.

Because with the exception of a patent mentioning the result of breeding Black Pearl, there is no professional or scientific literature available on this hybrid. Only small amateur growers exchange their growing experience. Therefore, we focused on a more detailed study of this hybrid. We determined the optimal temperature requirements of the mycelium during growth, we compared the requirements of Black Pearl (hereafter BP) with its parent species, monitored the yield with different composition of the substrate, the composition of fruiting bodies and the form of individual plots ensuring the formation of large and individual fruiting bodies

Obsah

1	Úvod	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3	Literární rešerše	9
3.1	Světová produkce pěstovaných hub	9
3.2	Substráty	10
3.3	Vývoj hub	11
3.3.1	Teplota	11
3.3.2	Vlhkost v substrátu	12
3.3.3	Vlhkost vzduchu	12
3.3.4	Poměr uhlíku a dusíku	13
3.3.5	Hodnota pH	13
3.3.6	Větrání a CO ₂	14
3.3.7	Světlo	14
3.3.8	Homogenizace	14
3.4	Teplotní ošetření substrátu	15
3.4.1	Teplotní ošetření substrátu	15
3.4.2	Vysokotlaká sterilizace	15
3.4.3	Nízkotlaká sterilizace probíhá	15
3.4.4	Teplotní ošetření suchého materiálu	16
3.4.5	Pasterizace parou	16
3.4.6	Pasterizace ponořením do horké vody	16
3.4.7	Spaření slaměných pelet vřelou vodou	17
3.4.8	Fermentační pasterizace	17
3.4.9	Chemická sterilizace	17
3.5	Rodu <i>Pleurotus</i>	17
3.5.1	Nazev	17
3.5.2	Popis	18
3.5.3	Taxonomie	18
3.5.4	Využití	19
3.5.4.1	Potravinářské využití	19
3.5.4.2	Mykoremediační využití	19
3.5.4.3	Léčebné využití	21
3.5.4.4	Vyplozený substrát (SDH)	22
3.6	Hlíva ústříčná	23
3.6.1	Popis	23
3.6.2	Požadavky Hlívy ústříčné	24
3.6.3	Substráty pro hlívu ústříčnou	24

3.6.4	Příprava substrátu pro Hlívou ústříčnu	25
3.7	Hlíva máčková	26
3.7.1	Popis.....	26
3.7.2	Výskyt.....	27
3.7.3	Pěstování.....	27
3.8	<i>Pleurotus elaeoselini</i>	29
3.9	<i>Pleurotus nebrodensis</i>	29
3.10	Black pearl	30
3.10.1	Původ	30
3.10.2	Popis.....	32
3.10.3	Pěstování.....	32
4	Metodika	33
4.1	Zrnitá sadba a její příprava	33
4.2	Sladinový agar a jeho příprava.....	34
4.3	Laboratorní vybavení a materiál.....	34
4.4	Harmonogram pokusů.....	35
4.4.1	Pokus 1. Test růstu mycelia 3 druhů hlív ve 4 různých teplotách	35
4.4.2	Pokus 2. Růst mycelia BP ve 3 teplotách na peletách z pšeničné slámy..	36
4.4.3	Pokus 3. Porovnání tvorby plodnic hlívy ústříčné, hlívy máčkové a jejich křížence hlívy BP	36
4.4.4	Pokus 4. Porovnání tvorby plodnic BP na pšeničných peletách obohacených a neobohacených sojovými slupkami.....	36
4.4.5	Pokus 5. Porovnání tvorby plodnic BP při různých způsobech šokování	37
5	Výsledky.....	37
5.1	Pokus č. 1.....	37
5.2	Pokus č. 2.....	42
5.3	Pokus č. 3.....	42
5.4	Pokus č. 4.....	46
5.5	5Pokus	49
6	Diskuze	54
7	Závěr	55
8	Literatura.....	57
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	59
10	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Houby mají různé významy pro ekosystém a lidskou společnost, jsou důležité pro život na Zemi. Houby rozkládají mrtvou organickou hmotu, jako jsou rostliny a živočichové. Tím se organické látky přeměňují na jednodušší sloučeniny, které se mohou znovu zapojit do koloběhu látek v přírodě. Mnoho druhů je jedlých a jsou bohatým zdrojem bílkovin, vlákniny, vitamínů a minerálů tak slouží jakou důležitou součástí lidské stravy jsou také využívány v tradiční medicíně a mají léčivé účinky. Některé druhy hub obsahují léčivé látky a průmyslové pěstování těchto hub umožňuje jejich využití ve farmacii. Houby jsou využívány v biotechnologii pro produkci enzymů, antibiotik a dalších látek. Pěstování hub může také pomoci při čištění kontaminovaných půd a vod.

Průmyslové pěstování hub přináší ekonomický přínos v zemědělství, potravinářském průmyslu a farmacii. Celkově lze říci, že průmyslové pěstování hub má široký význam a přispívá k lidské výživě, léčbě a udržitelnosti.

Na povrchu naší planety se ročně produkuje kolem 181,5 miliard tun lignocelulóza, to je druh biomasy, který se skládá především z celulózy, hemicelulózy a ligninu. Hlavními zdroji lignocelulózové biomasy jsou stromy, trávy a zbytky po sklizni potravinářských plodin. Po celém světě produkuje obrovské množství zemědělských odpadů a průmyslových vedlejších produktů z farmářských postupů a průmyslových potravin. Zemědělské zbytky představují asi 4,6 miliardy tun biomasy, z čehož se intenzivně využívá pouze asi 25% (Dahmen et al. 2019). Většina této organické hmoty však není přímo využita a v mnoha případech je odstraňována do životního prostředí. Organický odpad přesto, že je hrozbou pro životní prostředí, představuje potenciální biologický zdroj pro výrobu různých hodnotných produktů, jako je potrava ve formě hub, krmivo pro zvířata (Sánchez et al. 2022; Jablonsky et al. 2019), bioenergie, biohnojivo a další produkty. Biotechnologický proces, jako je pěstování hub, je současná ekonomická udržitelná technologie, která zahrnuje výrobu bílkovinné potravy (hub) z materiálů, které by jinak byly považovány za "odpad". Díky těmto skutečnostem je technologie pěstování hub považována za potencialní výnosné podnikání, ekologicky šetrné a krátký biotechnologický proces získávání potravinové bílkoviny pomocí degradačních schopností hub. Zemědělské odpady, které se skládají hlavně z ligninu, celulózy a hemicelulózy, slouží jako hlavní zdroj uhlíku a energie pro pěstování druhů hlív (*Pleurotus*).

Tento rod má vysokou účinnost při rozkladu široké škály lignocelulózových zbytků a druh *Pleurotus*, patří mezi nejefektivnějšími organismy rozkládajícími lignin. (Bitew et al. 2018).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Velmi perspektivním druhem pěstované hlívy je hlíva máčková pojmenovaná též jako hlíva královská (*Pleurotus eryngii*). Pro přípravu substrátu se používají piliny, které je třeba ošetřit sterilizací při 110-120 °C po dobu 1 až 2 hodin nebo se pasterizují při 95 °C po dobu 24 hodin, zatímco u hlívy ústříčné je požadována teplota teplotního ošetření nižší (60-70 °C). Při očkování tepelně ošetřeného substrátu pro hlívu máčkovou se musí dodržovat přísnější hygienická pravidla než u hlívy ústříčné. Nedávno objevený nový hybrid vzniklý křížením hlívy ústříčné s hlívou máčkovou označovaný jako Black Pearl (dále jen BP) nebo MH006404, který nemá takové nároky na přípravu substrátu jako hlíva máčková a jeho plodnice se dají porovnat s kvalitními plodnicemi hlívy máčkové. Předpokládá se, že vhodným kultivačního postupu bude možné pěstovat tento nový hybrid. Očekává se, že výnosy budou podobné jako u hlívy ústříčné. Co se týče kvality plodnic, měly by být srovnatelné s hlívou máčkovou. Tento nový hybrid tedy nabízí slibné vyhlídky pro budoucí pěstování hub. Protože chybí základní data ohledně pěstebních podmínek zejména v průběhu tvorby plodnic BP, bude cílem práce zjistit optimální složení substrátu, jeho teplotní ošetření a nastavit vhodné podmínky nasazení zárodků plodnic tak, aby plodnice se silným třením měly kvalitativní hodnoty srovnatelné s hlívou máčkovou (*Pleurotus eryngii*)

3 Literární rešerše

3.1 Světová produkce pěstovaných hub

Světová produkce jedlých a léčivých hub se odhaduje na přibližně 44,21 milionu metrických tun.

Lentinula edodes (shiitake) je nyní nejvíce pěstovanou jedlou houbou na světě s podílem asi 22% na světové produkci. Pět rodů hub (*Lentinula*, *Pleurotus*, *Auricularia*, *Agaricus* a *Flammulina*) tvoří 85% celkové světové produkce pěstovaných jedlých hub. Rod *Pleurotus* (hlíva) představuje zhruba 25% až 27% celkové světové produkce pěstovaných jedlých hub.

Pleurotus ostreatus (hlíva ústříčná) tvoří přibližně 16% celkové světové produkce pěstovaných jedlých hub. *Pleurotus eryngii* (hlíva královská, známá také jako “King oyster”) tvoří přibližně 5% celkové světové produkce pěstovaných jedlých hub. O produkci BP nejsou zatím údaje k dispozici. Tento druh není široce rozšířený a jeho produkce je pravděpodobně minimální. BP pochází z Japonska, kde byl vyšlechtěn z hlívy ústříčné a hlívy máčkové a tento původ mu dává výhody obou rodičovských druhů, jako je vysoká produkce, dlouhá trvanlivost, široká ekologická tolerancí a vynikající chuť. Jeho tmavé zbarvení klobouků a jemná oříšková chuť jsou oblíbené mezi kuchaři. Může být použit v různých pokrmech, jako jsou omáčky, polévky, těstoviny nebo grilovaná jídla. Je to typickým zástupcem rodu *Pleurotus* schopností degradovat lignin a celulózu, je vhodná pro pěstování a je méně náročná na přípravu substrátu a podmínky pěstování než *Pleurotus eryngii*. BP má velký potenciál pro průmyslové pěstování díky své výživné hodnotě a snadnému pěstování na rozdíl od *Pleurotus eryngii*. Nabízí také potenciální léčivé, bioremediační a biotechnologické vlastnosti. Jeho schopnost rychlého růstu a výrazné oříškové chuti ho činí atraktivním pro průmyslové využití.

3.2 Substráty

Substrát je vhodný pro růst houby, pokud obsahuje všechny nutriční požadavky v dostatečném množství, aby mohla syntetizovat své metabolity a získat z něj energii, kterou potřebuje. Požadavky se mohou variabilně měnit podle živin přítomných v médiu a že typ nebo optimální koncentrace substrátu se liší, pokud jsou ostatní živiny nebo faktory (teplota, pH) v suboptimálních podmínkách (Sánchez et al. 2022).

Požadavky dřevobytných hub na substrát, jako je jeho původ, složení a další charakteristiky, jsou obecně podobné. Důležitými faktory jsou typ lignocelulózového materialu, velikost částic, vlhkost, pH, mikrobiální obsah, metoda teplotního ošetření. Základem substrátu je vhodný typ lignocelulózového materialu. Pro většinu dřevobytných hub je nejpřirozenějším materiálem dřevo listnatých stromů. Ideální je dřevo pokácené během vegetačního klidu. Při intenzivní kultivaci těchto hub na sypkých substrátech se kombinují různé velikostní frakce dřevní hmoty. Velikost částic ovlivňuje růst mycelia a plodnost, protože souvisí s dostupností živin, vody a vzduchu pro houbové hyfy. Velmi malé částice ztěžují potřebnou ventilaci pro dýchání a velmi velké částice jsou nevhodné, protože snižují kompaktnost substrátu a přístup houby k živinám (Sánchez et al. 2022).

Kromě dřeva se pro pěstování hub využívá mnoho dalších materiálů rostlinného původu jako lněné pazdeří, fazolová sláma, listy citronové trávy, stonky a listy manioku, stonky mátové, sláma žluté hořčice a ovsy, novinový papír, papírová buničina, rostliny papyru, listy pepřovníku, bamborová nať, rostlina quinoa, sláma z ragi, rákosí, rýžová sláma, tráva, keře, stonky sezamu, sláma z prosa, stonky sóji, listy z subtropického lesa, bagasa z cukrové třtiny a cukrová třtina, odpad ze slunečnice, odpady z textilního průmyslu, kůra stromů, nemačkaná rýžová sláma, použité čajové listy, vodní hyacint, sláma obilovin, hobliny a piliny z listnatého dřeva, pivovarské mláto, sušené řepné řízky, výlisky z oliv, slupky z plodů podzemnice olejné, čirok súdánský, řepkové pokrutiny, otruby a sláma obilovin, ozdobnice, kávová sedlina, kokosová vlákna, kukuřičná větvena a sláma, trst rákosovitá peletovaná, bavlníkový odpad, surový cukr (Melanouri et al. 2022; Jablonsky et al. 2019; Petre et al. 2003).

3.3 Vývoj hub

Pro úspěšný růst a výnos hub je třeba sledovat následující parametry substrátu. Substrát musí mít správnou teplotu a vlhkost. Poměr uhlíku a dusíku, je důležitý pro růst a vývoj hub. Hodnota pH, substrát by měl mít neutrální nebo mírně zásaditou hodnotu pH, protože během kolonizace substrátu mycelium substrát okyseluje. Homogenita, substrát musí být rovnoměrně namíchaný a konzistentní. Tyto parametry jsou klíčové pro dosažení optimálního růstu a výnosu pěstovaných hub (Sánchez et al. 2022; Jablonsky et al. 2019).

3.3.1 Teplota

ovlivňuje metabolismus buněk. Ovlivňuje jak enzymatickou aktivitu, tak fluiditu lipidů buněčné membrány (Sánchez et al. 2022). Citlivost na teplotu se liší nejen mezi kmeny, ale i u jednoho kmene v závislosti na jeho vývojové fázi. Je tedy možné a dokonce běžné, že houba má optimální teplotu pro klíčení spor, která se liší od její optimální teploty pro myceliální růst nebo optimální teploty pro fruktifikaci (Sánchez et al. 2022).

Mycelium hlívy může růst v širokém rozmezí teplot. Druhy *P. ostreatus* rostly v rozmezí od 0 do 35°C s optimálními teplotami 30°C pro hlívu ústřičnou a 25°C pro hlívu máčkovou. Tyto druhy mohou vydržet teplotu i 40°C po dobu 24 hodin (ale ne 72 hodin) a poté znovu

obnovit svůj růst (Sánchez et al. 2022). Obecně platí, že optimální teploty pro vývoj plodnic hlív jsou mírně nižší než optimální teploty pro myceliální růst (Sánchez et al. 2022). Uvedené teplotní rozsahy by měly být považovány pouze za orientační, protože uvnitř jednoho druhu může být velké variace mezi jednotlivými kmeny.

3.3.2 Vlhkost v substrátu.

Obsah vlhkosti substrátu přímo ovlivňuje vývoj hub, protože ovlivňuje dostupnost živin. Takže obsahy vlhkosti nižší než 50% nebudou příznivé a vlhkost vyšší než 80% bude mít negativní vliv na růst hlív (Sánchez et al. 2022). Optimální obsah vlhkosti závisí nejen na druhu houby, který se pěstuje, ale také na typu použitého substrátu. Každý substrát má jinou schopnost zadržovat vodu a to znamená, že optimální vlhkost pro růst je různá; například schopnost zadržovat vodu u dřeva kakaovníku *Theobroma cacao* a u soje byla různá, takže hub stejného kmenu *Cookeina sulcipes* rostl optimálně při různých vlhkostech na každém z těchto dvou substrátů (Sánchez et al. 2022). Na příklad druhu hlívy mají optimální poměr pšeničné slámy: voda 1:4.4 (Sánchez et al. 2022). Obsah vlhkosti ovlivňuje nejen dostupnost živin v substrátu, ale také dostupnost kyslíku. Voda totiž zaujímá prostory, které mohou být obsazeny vzduchem. Při nadměrných vlhkostech substrátu se to stává omezujícím faktorem pro dýchání houby. Substrát s obsahem vody mezi 65-72 % je ideální pro prorůstání mycelia (Jablonsky et al. 2019). Pokud je substrát příliš suchý nebo mokrá (nad 75 % vody), růst mycelia se zpomaluje (Jablonsky et al. 2019). Při přípravě substrátu je třeba zohlednit jeho aktuální vlhkost a případně doplnit chybějící vodu.

3.3.3 Vlhkost vzduchu

Tento faktor je velmi důležitý pro správnou vyvoj plodnici druhů hlív. Jelikož plodnice jsou tvořeny vysokým obsahem vody a jejich struktura jim neumožňuje zadržovat vlhkost za nepříznivých podmínek, je nutná správná rovnováha mezi vlhkostí prostředí a obsahem vody v plodnici. Z tohoto důvodu musí být relativní vlhkost prostředí, kde houba roste, dostatečná, aby se zabránilo dehydrataci jak substrátu, tak plodnic. Obecně jsou houby velmi citlivé na změny relativní vlhkosti prostředí. Vhodná vlhkost pro vývoj hlíva máčkové je 85-95% (Sánchez et al. 2022), zatímco optimální vlhkost pro hlívu ústřičnou je 85% (Sánchez et al. 2022).

3.3.4 Poměr uhlíku a dusíku

Substrátů, na kterých obvykle plodí druhy hlív je dalším důležitým parametrem. Dřevobytné houby nevyžadující vysoký obsah dusíku, substráty se připravují s obsahem dusíku 0,7-1 %. Například hojně používaná sláma obilnin má 0,5 % dusíku (Jablonsky et al. 2019).

Předpokládá se, že tento rod je schopen fixovat atmosférický dusík. Ačkoli to nebylo prokázáno, je zřejmé, že obsah dusíku v plodnicích je v některých případech vyšší než v substrátu, na kterém roste (Sánchez et al. 2022). Druhy hlív mají schopnost využívat anorganické zdroje dusíku, jako je dusičnan draselný nebo močovina, i když se zdá, že pro optimální růst preferují houby organické zdroje (Sánchez et al. 2022). Afinita k zdrojům dodávky dusíku se liší mezi různými druhy tohoto rodu, ale také se liší pro určitý kmen v závislosti na substrátu, na kterém roste (Sánchez et al. 2022).

Je důležité poznamenat, že podle metabolismu každého druhu a v závislosti na zdroji dusíku může pH substrátu během růstu houby kolísat, až se stane málo nebo vůbec pro houbu nepříznivým. (Sánchez et al. 2022).

Uhlík je pro houby nezbytný, protože je přímým zdrojem energie pro jejich metabolismus; je také nezbytný pro tvorbu různých částí a buněčných struktur. Vzhledem k důležitosti, kterou má pro život buňky, je tento prvek ten, který vyžadují dřevobytné houby v největších množstvích. Houba může uhlík využívat z různých zdrojů, jako jsou polymery, sacharidy, lipidy atd.

3.3.5 Hodnota pH

Kultivačního média, kde houba roste má na ni přímý vliv, protože ovlivňuje iontový charakter média a přímo ovlivňuje proteiny membrány a aktivitu enzymů vázaných na buněčnou stěnu; to znamená, že přímo ovlivňuje metabolismus (Sánchez et al. 2022).

Pokud pH substrátu, na kterém houba roste, není vhodné, i když jsou podmínky teploty a živin optimální, růst bude ovlivněn. Na druhé straně, hodnota pH média je změněna růstem houby. Pro růst hlív byly uvedeny rozsahy růstu mezi 4 a 7 pH. S optimem mezi 5 a 6. Tato hodnota se však obvykle liší mezi kmeny a druhy. Hlíva máčková a hlíva ústříčná mají optimální pH v rozmezí mezi 5.5 a 6.5 (Sánchez et al. 2022). Během kolonizace substrátu si houby snižují pH produkcí kyselin. Vzhledem k tomu, že většina kontaminantů, které se nacházejí během procesu pěstování, jsou citlivější na vysoké hodnoty pH než druhy *Pleurotus*, při přípravě substrátu se preferují vyšší hodnoty než ty, které byly označeny jako optimální. Hodnota pH substrátu by měla být buď neutrální, nebo mírně zásaditá (7,0-7,3 pH)

(Jablonsky et al. 2019). To vychází i z výsledků získaných různými výzkumníky, kteří prokázali, že například *Trichoderma hamatum* výrazně snižuje svůj růst na pH 7 a je zcela inhibována na pH 8.5. K úpravě hodnot pH se používá většinou mletý vápenec (křída) nebo sádra (Jablonsky et al. 2019).

3.3.6 Větrání a CO₂

Kyslík je pro růst basidiomycetů velmi důležitý, protože jsou to aerobní organismy. Tyto organismy mají různé požadavky na kyslík v závislosti na fyzickém stavu, ve kterém se nacházejí. U *Pleurotus spp.* bylo zjištěno, že vysoká koncentrace CO₂ stimuluje klíčení spor a růst mycelia, ale inhibuje růst plodnic. To závisí podle druhů; například: Hlíva ústříčná dosahuje maximální stimulace svého myceliálního růstu, když vzduch obsahuje 28% CO₂, zatímco hlíva máčková to dosahuje s 22% (Sánchez et al. 2022). Plodnice se obvykle objevuje za normálních podmínek, když je v prostředí obklopujícím houbu 20% kyslíku a koncentrace CO₂ není vyšší než 800 ppm (Sánchez et al. 2022).

3.3.7 Světlo

P. ostreatus nemůže plodit v trvalé tmě. Nejlépe na světlo reaguje při vlnových délkách menším než 600 nm, avšak citlivost jak na množství, tak na kvalitu světla závisí na druzích. Citlivost na světlo je nejvyšší od okamžiků před až po několik hodin po kolonizaci substrátu myceliem (Sánchez et al. 2022).

3.3.8 Homogenizace

Substrátu je důležitý proces, kdy se smíchají spolu s lignocelulózovým materiálem ostatní přísady. Přísady se smíchají nejdříve v suchém stavu a teprve potom se obohatí předem vypočítaným množstvím vody a promíchají tak, že materiál je dokonale zhomogenizován. Suché části substrátu fungují jako teplotní izolant a nedají se řádně teplotně ošetřit, následně myceliem neprorostou a přežívající spory hub mohou být zdrojem kontaminace substrátu. Do míchaného obsahu se opatrně přidává voda až do dosažení optimální vlhkosti substrátu.

3.4 Teplotní ošetření substrátu

3.4.1 Teplotní ošetření substrátu

Je často používaným postupem při přípravě substrátu. Provádí se za účelem eliminaci spor konkurenčních hub. Substrát naplněný do sáčků, plastových lahví a volné nebo objemové je podroben teplotnímu ošetření. Některé houby, které rychle prorůstají substrátem například některé hlívy, se pěstují na substrátech připravených ve velkém objemu a následně osázených a plněných do obalů.

Existují různé metody teplotního ošetření,

- 1 Sterilizace vysokotlaká,
- 2 Sterilizace nízkotlaká,
- 3 Teplotní ošetření suchého materiálu s následným doplněním vody,
- 4 Pasterizace parou,
- 5 Pasterizace ponořením do horké vody,
- 6 Spaření slaměných pelet vřelou vodou,
- 7 Pasterizace při fermentačním procesu,
- 8 Chemická sterilizace.

3.4.2 Vysokotlaká sterilizace

Probíhá při zvýšeném tlaku (do 200 kPa) a při teplotách 110-121 °C. Je to nejúčinnější metoda teplotního ošetření, ale je třeba počítat s vyššími investičními náklady na autokláv a na spotřebovanou energii. U substrátů vyrobených z lignocelulózových materiálů je dostatečná teplota 110 °C, přičemž dobu sterilizace volíme v závislosti na velikosti sterilizovaného objemu. Při sterilizaci vařeného obilí pro výrobu sadby se volí sterilizační teplota 121°C.

3.4.3 Nízkotlaká sterilizace probíhá

V proudící nízkotlaké páře a dosahuje se teploty 90-95 °C. Ničí se přitom živé buňky a spory hub. Probíhá v teplotně izolovaných komorách různé velikosti a délka doby teplotního ošetření závisí na množství substrátu v jednom obalu a v celé komoře. Může trvat i desítku hodin.

3.4.4 Teplotní ošetření suchého materiálu

Je takzvaná xero metoda. Nařezaná suchá sláma se plní do dobře izolovaného boxu, a to do výšky 1,5 m na dřevěný rošt. V uzavřeném boxu cirkuluje vzduch, který vtlačuje radiální ventilátor spolu se “suchou” parou zpod roštu do hromady nařezané slámy. Teplota vstupní páry je 105-120 °C a ve slámě se dosáhne teploty 100 °C, tato teplota se udržuje nejméně jednu hodinu. Ihned potom se místnost otevře, sláma se smíchá s vodou a po přidání sadby se substrát naplní do PE pytlů. Voda musí mít parametry pitné vody a při máčení dosáhne vlhkost substrátu v rozmezí 70-72 %. Při této metodě musí být dosaženo stejnoměrného zahřátí slámy na požadovanou teplotu, a proto se používá menší propařovací místnost do obsahu 10-15 m³. S ohledem na četný výskyt konkurenčních hub v substrátu nebyla metoda příliš spolehlivá. Účinnější, než takový box je pro propařování slámy vhodný tepelně izolovaný rotující buben o obsahu několika metrů krychlových. Do něj se naplní sláma a za stálého otáčení se do bubnu přidává pára, která zajistí stejnoměrné zahřátí všech částic slámy. Využívalo se také bubnů sušiček zemědělských surovin. Tepelně ošetřená sláma pro přípravu substrátu pro hlívu se následně doplní vodou na 67-70 % vlhkosti. Tím se zchladí a plní do pytlů nebo bloků. Metoda se dá použít pouze u dokonale skladované kvalitní, suché slámy, která neobsahuje plesnivá místa. Výhodou je, že celý proces trvá pouze 2-4 hodiny a je spolehlivěji připraven než statické zahřívání suché slámy.

3.4.5 Pasterizace parou

Je specifický proces přípravy často tvořený směsí slámy, pilin a dalších organických materiálů, je nejprve připraven. Poté je substrát naplněn do sáčků nebo nádob, které jsou navrženy tak, aby umožnily průchod páry. Sáčky nebo nádoby jsou poté umístěny do pasterizační komory, kde jsou vystaveny horké páře. Teplota a doba pasterizace se mohou lišit, ale obecně se pohybují kolem 60-80°C po dobu 1-2 hodin. Po pasterizaci je substrát nechán vychladnout předtím, než je očkovan houbami. Jakmile je substrát chladný, může být očkovan houbami. Toto očkování se obvykle provádí v sterilním prostředí, aby se zabránilo kontaminaci.

3.4.6 Pasterizace ponořením do horké vody

Je technika, která se často používá při pěstování hub. Tento proces spočívá v tom, že substrát se ponoří do vody o teplotě 75 až 80 °C na dobu 1 až 2 hodin v závislosti na objemu, který má

být pasterizován. Před vložením substrátu je třeba nejprve zvýšit teplotu na cca 82 °C. Teplota se zvýší nad 80 °C, protože zavedení chladnějšího substrátu snižuje teplotu vody. Tento proces pomáhá eliminovat nežádoucí mikroorganismy.

3.4.7 Spaření slaměných pelet vřelou vodou

Je specifická technika přípravy substrátu vyrobený ze slaměných pelet. Přípravuje se následovně, do čisté nádoby odpovídající velikosti se nalije vřelá voda. Přidají se slaměné pelety v poměru 1 kg pelet na každé 2 litry vřelé vody a rychle se promíchají, aby se i suché pelety rychle spojily s horkou vodou. Pelety začnou během několika vteřin rychle zvětšovat svůj objem. Substrát je několikrát promíchán, aby byly všechny pelety rovnoměrně namočené. Nádoba se substrátem se zakryje fólií a ponechá se přes noc na teplém místě. Je důležité dodržovat stanovený poměr mezi vřelou vodou a peletami (I. Jablonsky, osobní sdělení, 28. březen 2023).

3.4.8 Fermentační pasterizace

Je specifický proces, který se používá při pěstování hub. Tento proces spočívá v tom, že substrát pro houby je nejprve podroben fermentaci, což je proces, při kterém některé mikroorganismy jako jsou bakterie a kvasinky rozkládají organické látky.

Během fermentace se produkuje teplo, které může zahřát substrát na teplotu dostatečnou pro pasterizaci.

3.4.9 Chemická sterilizace

Je postup ochrany substrátu pro *Pleurotus spp.* Základem je aplikace některých chemických produktů během přípravy substrátu jako například chlornan sodný nebo hydroxid vápenatý. Cílem je omezit výskytu různých parazitických hub a běžných konkurentů.

3.5 Rodu *Pleurotus*

3.5.1 Název

Jméno rodu *Pleurotus* pochází z řečtiny, kde “*pleurá*” znamená “bok” a “-*oto*” odkazuje na “uši”. Tento název odkazuje na tvar plodnic, které jsou často bočně připojeny k

substratu/stomu. *Pleurotus ostreatus* byl poprvé popsán v roce 1774 v Rakousku botanikem Nikolaus Joseph von Jacquin. Rod *Pleurotus* jako takový byl pak definován v roce 1871 německý mykolog Paul Kummer. Původně byl tento rod doporučen jako kmen v rámci rodu *Agaricus*.

3.5.2 Popis

Tento rod zahrnuje mnoho druhů, které jsou širokém rozšířené. Houby se rozmnožují sexuálně i asexuálně. Rod *Pleurotus* se skládá z asi 40 druhů rozšířených v širokém spektru oblastí (Raman et al. 2020). Bylo identifikováno 15 skupin neschopných křížení (Bitew et al. 2018). Jsou nalézány rostoucí na vlhkém dřevěném kmeni stromů a rozkládajících se organických látkách. Jejich klobouk je obvykle lasturovitý a jejich barva může být různá, jako je bílá, krémová, šedá, žlutá, růžová nebo světle hnědá.

Druhy genus *Pleurotus* obsahují biologicky aktivní látky s mnoha potenciálními přínosy pro lidské zdraví (Lavelli et al. 2018). Houby *Pleurotus spp.* jsou známé jako jedlé a léčivé houby, které mají dlouhou historii použití jako potravina a v lidové medicíně. První pěstování *Pleurotus spp.* se datuje do roku 1917 v Německu (Bitew et al. 2018). Jsou považovány za zdravé díky svému obsahu bílkovin, vlákniny, vitamínů a minerálů. Jsou konzumovány jako funkční potraviny díky své přitažlivé chuti a vůni, výživové a léčivé hodnotě. Druhy *Pleurotus* jsou komerčně důležité jedlé houby a jsou pěstovány po celém světě. Produkce těchto hub představuje asi 25% až 27% celkově pěstovaných hub na světě. Houby druhů *Pleurotus* jsou pěstovány na široké škále lignocelulózní biomasy s jednoduchými a nízkonákladovými výrobními technikami (Raman et al. 2020). Hlíva je známá svou schopností napadat a konzumovat drobné živočichy. Mycelium hlívy vytváří tzv. Toxocyty neboli lepivé knoflíky či lepivé uzlíčky. Jedná se o spojení toxického působení lepivé struktury se směrovanými hyfami (Jablonsky et al. 2019), který ochromí hlístice během několika minut po kontaktu, což vede k nekróze a vytvoření kaše, která usnadňuje konzumaci jako bohatý zdroj dusíku (Baisas et al. 2023; Chang et al. 2023). Látka, která hádátka paralyzuje, byla nazvána ostreatin (Jablonsky et al. 2019).

3.5.3 Taxonomie

Pleurotus spp. jsou obecně klasifikovány následovně:

Rise: Houby (*Fungi*)

Oddeleni: Houby stopkoytrusne (*Basidiomycota*)

Trida: Stopkovytrusne (*Basidiomycetes*)

Podtrida: Houby rouskate (*Agaricomycetidae*)

Rad: Lupenotvare (*Agaricales*)

Celed: Hlívovite (*Pleurotaceae*)

Rod: Hlíva (*Pleurotus*)

(Holec et al. 2012)

3.5.4 Využití

3.5.4.1 Potravinářské využití

Houby rodu *Pleurotus* je jedna z nejčastěji konzumovaných hub na světě, je oblíbená pro svou chuť a texturu. Je to jedna z nejčastěji pěstovaných jedlých hub po celém světě. Houby tohoto rodu jsou považovány za zdravé kvůli svému obsahu bohaté na bílkoviny, dietní vlákninu, esenciální aminokyseliny, sacharidy, vitamíny rozpustné ve vodě a minerály. Tyto houby jsou konzumovány jako funkční potravina, neboť kromě atraktivní chuti a vůně mají také výživovou a léčivou hodnotu (Lavelli et al. 2018). Jsou oblíbené pro svou nízkou kalorickou hodnotu, obsah sacharidů, tuku a sodíku (Lavelli et al. 2018).

Je pozoruhodné, že bílkovina *Pleurotus spp.* obecně splňuje doporučení esenciálních aminokyselin pro děti, dospívající a dospělé. Použití pšeničné slámy jako substrátu pro *P. ostreatus*, *P. eryngii* podporuje tvorbu esenciálních aminokyselin (Lavelli et al. 2018).

3.5.4.2 Mykoremediační využití

Kontaminace prostředí antropogenními elementárními a molekulárními kontaminanty je rostoucí problém. Lidstvo svou činností poškodilo životní prostředí, včetně půdy, vzduchu, podzemních vod a moří. Do prostředí se dostalo a dostává množství xenobiotických látek, cizí životnímu prostředí a mnohé z nich jsou perzistentní a toxické, špatně a pomalu se rozkládají a četné škodí živým organismům, rostlinám, živočichům včetně člověka (Jablonsky et al. 2019; Sánchez et al. 2022). Cílem je vyvinout postupy, jak životní prostředí škodlivých látek zbavit, což je časově i finančně náročné. Nejpřirozenější jsou postupy založené na činnosti mikroorganismů. Některé houby mohou efektivně rozkládat látky organického původu. Nonspecifické exocelulární enzymy, které umožňují houbám rodu *Pleurotus* degradovat jejich

substráty, zejména lignin, jsou také schopné degradovat nebo transformovat organické kontaminanty (Jablonsky et al. 2019; Sánchez et al. 2022). Tyto houby se kultivují na předem ošetřených lignocelulózových materiálech, jako jsou piliny, štěpka nebo sláma. Smíchání vypleného houbového substrátu nebo substrát degradovaný houbami (dále SDH) s kontaminovanou půdou je jednou z metod. Pokud je použit SDH po pěstování dřevních hub, jehož hlavní složkou je dřevní hmota a sláma, obsahuje živé, enzymaticky aktivní mycelium dřevokazné houby. Po smíchání SDH s kontaminovanou půdou může mycelium prorůst do půdy a v ní rozkládat i přítomné cizorodé toxické látky a tak urychlit přirozené rozkladné procesy pro odstranění škodlivých látek z prostředí (Jablonsky et al. 2019; Sánchez et al. 2022). Smíchání SDH s kontaminovanou půdou je jednou z nejjednodušších, i když nikoli nejúčinnějších metod (Jablonsky et al. 2019; Sánchez et al. 2022).

Hlívy se používají v procesu mykoremediací k odstraňování škodlivých látek z životního prostředí. Tyto houby jsou schopné rozkládat škodlivé látky, jako jsou ropné produkty například naftu, minerální oleje, výbušniny, pesticidy, polychlorované bifenylly PCB a polycyklické aromatické uhlovodíky PAH (Jablonsky et al. 2019). Ačkoli chemické a fyzické metody jsou často první volbou pro odstranění kontaminantů, biologická remediace může být životaschopnou alternativou, zejména vzhledem k složitosti a citlivosti mnoha přírodních systémů.

Konkrétně hlívy jsou jedinečně vhodné pro tuto úlohu díky své schopnosti rychlého růstu, rozmnožování a adaptace, stejně jako schopnosti vytvářet rozsáhlé myceliální sítě (Sánchez et al. 2022). *Pleurotus spp.* má potenciál provádět mykoremediaci v reakci na různé scénáře kontaminace jak v půdách, tak ve odpadních vodách (Sánchez et al. 2022).

Mykoremediace, využití hub k dekontaminaci ekosystémů, je stále více využívána. Některé houby mohou sice přijímat do svého mycelia různé prvky jako například těžké kovy, ale tím je z prostředí neodstraní (Jablonsky et al. 2019). Efektivněji ale působí vybrané houby při rozkladu látek organického původu. Hlívy jsou schopné efektivně metabolizovat různé látky, jsou účinné při rozkladu uhlovodíků a konverzi toxických sloučenin do inertních forem (Sánchez et al. 2022). Mají také schopnost akumulovat těžké kovy a mohou být použity k remediaci kontaminovaných půd a vod. SDH může také filtrovat těžké kovy z roztoků a rozkládat uhlovodíky (Innes 2023).

Lignocelulózové substráty mají zvláštnost, že adsorbují pesticidy, a tato schopnost se zvyšuje, protože houba částečně degraduje tyto sloučeniny. Houba transformuje a degraduje pesticid, který byl substrátem adsorbován. Tato kombinace může být použita s SDH pro vývoj biofiltrů pro čištění kontaminovaného vzduchu, vody a půdy. Přidání čerstvého substrátu k houbě jí

umožňuje růst a pokračovat v její degradační aktivitě. Existence aktivního mycelia je zásadní pro pokračování této aktivity, zatímco přidání čerstvého lignocelulózového substrátu indukuje pokračující lignocelulolytickou aktivitu houby. Potřeba ekonomických filtračních systémů pro snížení environmentálního znečištění neustále roste a recyklovaný hlívový SDH nabízí slibný potenciál pro tento účel (Sánchez et al. 2022).

3.5.4.3 Léčebné využití

Houby nejsou jen chutným doplňkem naší stravy, ale také poskytují mnoho zdravotních přínosů díky svému výživovému složení a bioaktivním složkám.

I když hlíva patří k nejznámějším pěstovaným houbám, přesto není veřejnost dostatečně informována o jejích léčivých vlastnostech (Jablonsky et al. 2019). Analýzy prokázaly vysoký obsah léčivých látek v plodnicích (Jablonsky et al. 2019). Léčivé vlastnosti hlívy jsou známy po několik staletí. Byli to slovenští vědci, kteří jako první poukázali na některé léčivé látky v hlívě (Jablonsky et al. 2019). Hlíva obsahuje látky, které byly identifikovány jako lektiny, glukany, glykopeptidy, β -D-Glukan (také známý jako pleuran), polysacharidy a lovastatin. (Jablonsky et al. 2019; Lavelli et al. 2018; Galappaththi et al. 2021). Tento glukan se podílí na zvýšení imunity lidského organismu (Jablonsky et al. 2019; Cheung et al. 2022; Lavelli et al. 2018). Další zajímavou skupinou aktivních látek jsou terpeny s antibiotickou a protirakovinnou aktivitou, které houba syntetizuje (Jablonsky et al. 2019). Chilští a japonští vědci studovali obsah lovastatinu v plodnicích hlívy. Lovastatin patří do skupiny statinů, které aktivně působí při odbourávání cholesterolu (Jablonsky et al. 2019; Cheung et al. 2022; Lavelli et al. 2018). Cholesterol se snižuje i působením dietetické vlákniny, kterou u hlívy tvoří především chitin a z něj alkalickou hydrolýzou vznikající chitosan (Jablonsky et al. 2019; Lavelli et al. 2018). Obě tyto složky mohou být také zodpovědné za zachycování cholesterolu i jeho produktů. Z plodnic hlívy byly izolovány proteiny zvané lektiny, použitelné ve směsi s ionty vápníku jako koagulační faktor mající antibiotické vlastnosti. Hlívy produkovaný na substrátech obsahujících matoliny nebo odpady z mlýnů na olivy vykázal vyšší obsah bioaktivních sloučenin a srovnatelnou produktivitu než substráty na bázi pšenice (Carrasco et al. 2018).

Hlívy jsou dobrým zdrojem bílkovin, dietních vláken, nenasycených mastných kyselin, vitamínů a minerálů a také mají antioxidační vlastnosti. Proto mohou být považovány za funkční potraviny (Sánchez et al. 2022).

Druhy z rodu *Pleurotus* jsou známy svými léčebnými vlastnostmi. Různé druhy hlív prokázaly řadu léčebných vlastností, jako jsou imunomodulační (Sánchez et al. 2022), antigenotoxické, antioxidační, protizánětlivé, hypocholesterolemické, antihypertenzivní, antiagregační, antihyperglykemické, antimikrobiální a antivirové (Lavelli et al. 2018). Kromě toho jsou známy svou schopností posilovat imunitní systém a působit jako látky snižující hladinu cholesterolu (Lavelli et al. 2018). Předběžné výzkumy naznačují potenciální antirakovinné účinky, ale stále chybí jasné klinické důkazy. Je třeba dalších studií k potvrzení těchto nálezů a určení jejich bezpečnosti a účinnosti u lidí. (Gregori et al. 2007; Lavelli et al. 2018; Baisas et al. 2023; Chang et al. 2023). *Pleurotus* také obsahuje ergosterol, prekurzor vitamínu D2, a prekurzory vitamínu E, včetně α -, β -, γ - a δ -tokoferolů (Lavelli et al. 2018). Hlíva ústříčná obsahuje také prekurzor vitamínu A, tj. β -karoten (Lavelli et al. 2018). Hlívy jsou potenciálním zdrojem minerálů potřebných pro různé tělesné funkce. Hlavními minerály jsou P, K, Na, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn a Cu (Lavelli et al. 2018; Sánchez et al. 2022). Pěstované druhy obsahují pouze nízké hladiny nežádoucích prvků, jako je Cd, Pb a Hg (Lavelli et al. 2018).

3.5.4.4 Vyplozený substrát (SDH)

Kromě mykoremediačního využití dá se použít i do kompostu a při přípravě vermikompostu, protože pro žížaly není toxický (Jablonsky et al. 2019).

Použití SDH hlívy jako krmiva pro přežvýkavce. Použití lignocelulozových odpadů pro krmení zvířat je omezeno nízkou stravitelností těchto látek v batoru. To je proto, že molekuly ligninu pokrývají polysacharidy (zejména celulózu) a chrání je před degradací enzymy mikroflóry batoru (Sánchez et al. 2022). Proto, i když mnoho zemědělských vedlejších produktů obsahuje významné množství polysacharidů, téměř nejsou dostupné pro přežvýkavce bez předchozí delignifikace. Houby rodu *Pleurotus* mohou využívat širokou škálu lignocelulozových materiálů pro svůj růst, stejně jako mohou růst v širokém rozmezí teplot a mohou proto být použity pro účely recyklace. Tato houba využívá lignocelulózu během svých prvních stádií růstu a poté selektivně degraduje lignin. Kombinace pěstování hlív za účelem produkce hub a poté použití jejich SDH pro krmení zvířat se jeví jako slibná

(Sánchez et al. 2022). V tomto případě má SDH nutriční hodnotu srovnatelnou se senem. Nevýhodou tohoto postupu jsou vlhkost SDH (60-70%) a vysoký obsah popela (12-20% na suchou hmotu). Jako výhody má SDH vysoký obsah bílkovin (8-10% suché hmoty) a produkce hub probíhá po celý rok.

Bylo prokázáno, že SDH hlívy ze substrátu připraveného na směsi bavlníkové a pšeničné slámy může nahradit 30% denního krmiva pro ovce a jalovice (Sánchez et al. 2022). V méně intenzivních chovech se očekává, že větší podíl SDH může být použit k uspokojení potřeb zvířat. V případě skladovaného SDH, pokud se používá ve směsi s drceným ječmenem v siláži, může také nahradit 30% nutričních požadavků skotu (Sánchez et al. 2022). Úspěšně byl použit SDH jako krmivo pro prasata. Při 10% podílu v krmné dávce přispěl substrát ke zvýšení přírůstků hmotnosti zvířat a k jejich uklidnění (Jablonsky et al. 2019).

Použití SDH z *Pleurotus spp.* jako krmiva pro zvířata vyžaduje určité opatření:

- 1) Je třeba velmi pečlivě zabránit přítomnosti kontaminujících látek v SDH.
- 2) Plastové sáčky a další obaly pro pěstování hub musí být odstraněny ze SDH, aby se zabránilo poškození dobytka.
- 3) Podíl SDH v krmivu by měl být postupně zvyšován, dokud se nedosáhne optimálního stavu. Tento proces dává mikroflóře bacheru čas na přizpůsobení se tomuto neobvyklému krmivu. Postupné zvyšování SDH v dietě zajišťuje jeho použití po delší dobu. Pokud je dávka SDH větší než okamžité potřeby pro stravu zvířat, může být konzervována siláží. Doporučuje se přidat zrnina jako je pšenice, ječmen nebo kukuřice, například, aby se zajistila vhodná siláž (Sánchez et al. 2022).

3.6 Hlíva ústříčná

3.6.1 Popis

Pleurotus ostreatus, známý také jako hlíva ústříčná nebo oyster mushroom, je druh houby, který byl definován a převeden do nového rodu *Pleurotus* německým mykologem Paulem Kummerem v roce 1871. Tento název je v současnosti uznáván jako vědecký název. Hlíva ústříčná je dřevobytná houba - saprotrof, která je rozšířená v mírném pásmu, roste po celé Velké Británii, Irsku a většině částí Evropy. Je také široce rozšířen v mnoha částech Asie, včetně Japonska, a nachází se i v částech Severní Ameriky (El-Ramady et al. 2022).

Hlíva ústříčná je pěstována na substrátech složených z různých poměrů slámy pšeničné, žitné, řepkové, rýžové a kukuričné a dalších lignocelulózových odpadech (Jablonsky et al. 2019).

Plodnice této houby rostou v hustých shlucích, které jsou uspořádány ve formě střečovité. Barva klobouku se může pohybovat od šedé až po šedohnědou, někdy s modrými až fialovými tóny nebo rezavě hnědou, a s věkem vybledne. Šířka klobouku se pohybuje od 5 do 15 cm, někdy až 35 cm. Lupeny jsou bělavé, dosti řídké, celokrajné, sbíhající na třeň. Třeň je dlouhý 1,5-5 cm, tlustý 1,8-2 cm obvykle silně excentrický až postranní, hladký nebo podélně rýhovaný (Jablonsky et al. 2019). barvy bílé až světle šedé, a na spodní straně třeně mohou být místy propojené. Výtrusy mají válcovitý tvar a jejich velikost se pohybuje v rozmezí 8-12,5 x 3-4,5 µm. Výtrusný prach má bílou barvu.

3.6.2 Požadavky Hlívy ústříčné

Teplota má vliv na růst hlívy ústříčné. Optimální teplota pro klíčení spor je 28 °C a pro růst mycelia je to kolem 25-28 °C. Při teplotě 20 °C je růst zpomalený. Mycelium přežije i teploty pod nulou a po zvýšení teploty opět začne růst. V letním období může dojít k přehřátí substrátu. Teploty nad 32-35 °C mohou způsobit odumírání mycelia.

Optimální hodnota pH pro růst mycelia hlívy ústříčné je v rozmezí 5,5-6,5. Růst mimo toto rozmezí je pomalejší. Během růstu se pH v substrátu mění.

Během kolonizace substrátu hlíva osvětlení nepotřebuje, ale během nasazování a vývoje plodnic je potřebná určitá intenzita osvětlení. Při vyšší teplotě má hlíva větší nároky na osvětlení. Nedostatek osvětlení může vést k tvorbě protáhlého třeně a zakrnělého klobouku. Optimální osvětlení ovlivňuje barvu klobouku.

Koncentrace oxidu uhličitého ovlivňuje růst hlívy ústříčné. Během kolonizace substrátu je optimální koncentrace 2000-3000 ppm. Tato vysoká koncentrace potlačuje růst konkurenčních plísní. Během vývoje plodnic reagují různé kmeny hlívy na koncentraci CO_2 různě. Některé kultivary jsou citlivé a při koncentraci 800 ppm reagují nižším výnosem. Při zvýšené koncentraci CO_2 se vyvíjejí deformované plodnice. Při koncentraci nad 2000 ppm tvorba plodnic ustává. Tvorba plodnic je aerobní proces, na rozdíl od prorůstání mycelia substrátem, které je semiaerobní.

3.6.3 Substráty pro hlívou ústříčnou

Základní surovinou pro přípravu substrátu je sláma obilnin. Pěstitel vybírá slámu, která je nejnadhěji dostupná. V ČR je to sláma ozimé pšenice nebo žita. Použití samotné ječné slámy

se nedoporučuje, protože se velmi rychle rozkládá, rychle nasává vodu a snadno se převlhčí a vzniklý substrát ztrácí strukturu. Přídavek menšího podílu ječné slámy k pšeničné slámě je ale přínosem, protože urychluje kolonizaci substrátu myceliem a plodnice se objevují o 5-7 dnů dříve než jen na samotné pšeničné sláma (Jablonsky et al. 2019).

Připravovaný substrát musí mít takové vlastnosti, aby vyhovoval růstovým požadavkům, na kterém houba dosáhne uspokojivého výnosu. Substrát musí mít optimální vlhkost, poměr uhlíku a dusíku, hodnotu pH a musí být dokonale homogenní.

3.6.4 Příprava substrátu pro Hlívou ústříčnu

Základní surovinou pro přípravu substrátu je sláma obilnin, kukuřice nebo kukuřičná větvena. V ČR je to sláma ozimé pšenice nebo žita. Přídavek menšího podílu ječmenné slámy k pšeničné slámě urychluje kolonizaci substrátu myceliem. Kromě vápenného přídavku není potřeba k slámě dodávat další minerální látky, k výživě kultury hlívy postačuje obsah dusíku obsažený ve slámě (0,57-0,71%). Vliv na růst mycelia a výnos má nejen druh použité slámy, ale i způsob její sklizně a skladování. Kvalitní sláma je suchá a má žlutou barvu. Sláma se skladuje pod přístřešky nebo ve stozích. K výrobě substrátu by se měla používat sláma nejdříve 3-4 měsíce po sklizni. Při pěstování polních plodin se používá řada pesticidů. Před namočením slámu nařezeme na délku 2-6 cm. Pro stabilizaci pH se doporučuje doplnit slámu přídavkem 3-5 % váhových dílů sádry nebo vápence. Namočenou slámu podrobíme teplotnímu ošetření. Existuje několik způsobů máčení slámy. Velké podniky máčejí slámu kontinuálně. Sláma připravená k tepelnému ošetření by měla obsahovat 70-76 % vody. Substrát pro hlívu je ovlhčená sláma, která obsahuje zárodky hub a bakterií. Teplotní ošetření slámy probíhá v tunelech s přívodem páry. Základním předpokladem úspěšné výroby substrátu je minimalizace počtu zárodků konkurenčních hub ve slámě. Osvědčenou metodou likvidace zárodků ostatních hub je vysoká teplota. Pro účinné ošetření slámy se obvykle používá teplota 60 °C po dobu jednoho dne. Sláma, která byla sklizena a uskladněna za sucha, obvykle obsahuje méně plísní a postačí jí zmíněná teplota. Naopak starší sláma, která byla vystavena dešti, vyžaduje vyšší teplotu 80 °C, také po dobu jednoho dne. Je důležité, aby každá dávka slámy byla pečlivě posouzena a teplotně ošetřena podle její kvality a historie skladování. Zvláštní pozornost je třeba věnovat slámě z polí, kde byly použity biologické fungicidní přípravky obsahující houbu *Trichoderma harzianum*, nebo hnojiva z hlívového vypozeného substrátu s vysokým obsahem *Trichoderma*. Pokud standardní teplotní ošetření

při 80 °C je nedostačující, je třeba přistoupit k vývoji selektivních substrátů. Cílem je vytvořit podmínky, které umožní růst prospěšných mikroorganismů a zároveň potlačí nežádoucí houby, jako je *Trichoderma spp.*, *Penicillium spp.* atd. Toho se dosahuje fermentací substrátu při 30 °C nebo 40 °C, což podporuje růst přirozené mikroflóry ve slámě. Někteří pěstitelé přidávají do substrátu speciálně pěstované bakterie, jako jsou *Bacillus subtilis*, *B. macerans*, *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*, *Paenibacillus polymyxa* či *Pseudomonas spp.* (Jablonsky et al. 2019). Alternativní metodou je nejprve zahřát slámu na 60 °C po dobu 2-3 dnů a poté snížení teploty na 40-45 °C, což umožní růst termotolerantních hub a bakterií. Během teplotního ošetření je důležité substrát větrat a zásobovat ho kyslíkem pro rozvoj mikroorganismů. Obohacení slámy četnými přísadkami může zvýšit výnos hlívy. Osvědčilo se míchání 10-15 % hmotnosti vyplozeného hlívového substrátu. Někde slámu propařují v tepelně izolovaném rotujícím bubnu, což zajistí stejnoměrné zahřátí všech částic slámy (Jablonsky et al. 2019).

3.7 Hlíva máčková

3.7.1 Popis

Hlíva máčková není dřevobytná houba, která roste jako saprotrof až parazit na kořenech a spodcích stonků rostlin z čeledi miříkovitých (*Apiaceae*) a hvězdnicovitých rostlin (*Asteraceae*), zejména na družících rodu máčka ladní (*Eryngium*) (Holec et al. 2012), roste v malých trsech nebo jednotlivě. Klobouk o průměru 40-200 mm (Holec et al. 2012), je nízce sklenutý, zpočátku s podvinutým okrajem, vločkatě šupinatý, světle okrový (Jablonsky et al. 2019) žlutohnědý, načervenalé až čokoládové hnědý (Holec et al. 2012) v dospělosti klobouky získávají nálevkovitý tvar, lupeny jsou bělavě krémové (Jablonsky et al. 2019) šedobílé, pak narůžověle krémové až světle okrové (Holec et al. 2012). Na rozdíl od ostatních hlív má klobouk sice menší průměr, ale tloušťka dužniny je 10-15 mm. Třeň je dlouhý 3-10 cm (Jablonsky et al. 2019), umístěný středově, silný a většinou výstředný. Lamely jsou řídké umístěné, tenké, šedobílé, pak narůžověle krémové až světle okrové barvy (Holec et al. 2012). Plodnice mají jemnou dužninu a svou lahodnou chutí se výrazně liší od ostatních hlív, které mají tuhý třeň (Jablonsky et al. 2019). Vypěstované plodnice se od hub nalezených v přírodě významně liší. Dosahují větších rozměrů než plodnice nalezené v přírodě. Její vzhled se může lišit v závislosti na podmínkách pěstování, jako je množství světla, vzduchu, obsah oxidu uhličitého a vlhkost. Spory klíčí poměrně snadno, ale růst mycelia je pomalejší než u

ostatních druhů hliv. Teplotní optimum růstu mycelia je 25-27 °C (Jablonsky et al. 2019). Letální teplota je nad 40°C do 24 hodin. Optimální pH substrátu dosahuje 5-6,5 (Jablonsky et al. 2019). Z biotechnologického hlediska je zajímavá houba díky své schopnosti kolonizovat nelesní lignocelulózový materiál (Peña et al. 2021). je schopna úspěšně degradovat různé aromatické sloučeniny včetně polutantů a průmyslových barviv a je tak užitečná pro bioremediaci půdy a průmyslových vod (Jablonsky et al. 2019)

3.7.2 Výskyt

Hlíva máčková (*Pleurotus eryngii*), je houba obývající travnaté oblasti (Peña et al. 2021), která se vyskytuje v mírném i subtropickém pásmu několika světadílů, Její přirozený areál sahá od Atlantského oceánu přes Středomořskou oblast včetně severní Afriky a střední Evropu až po střední Asie, západní Asii, Himálaje a Indii. Varieta *P. eryngii* var. *eryngii* se vyskytuje v západní a střední Evropě, včetně Maďarska, České republiky, Nizozemska, severní Afriky, na Sicílii, v Puglii a v Kalábrii. Varieta *P. eryngii* var. *ferulae* se vyskytuje ve Středomoří, Španělsku, Itálii a Izraeli (Jablonsky et al. 2019).

V České republice se varieta *P. eryngii* var. *eryngii* vzácně vyskytuje od konce srpna do konce listopadu na malých lokalitách v severních Čechách (Most, Obrnice) a na jižní Moravě (Hustopeče) na kořenech máčky ladní a je České Republice zařazena do Červeného seznamu mezi kriticky ohrožené druhy (Jablonsky et al. 2019).

3.7.3 Pěstování

Protože hlíva máčková není houbou dřevobytnou, liší se poněkud svými nároky na substrát i způsob pěstování od většiny ostatních druhů hlívy. Především je náročnější na teplotní ošetření substrátu vzhledem k jeho pomalejší kolonizaci. Dále pak má pro nasazení a vývoj plodnic specifické teplotní nároky (Jablonsky et al. 2019).

Díky intenzivnímu sběru z přírody v jižní Itálii hlíva máčková pomalu zmizela. Avšak, díky pěstování v pěstírnách se podařilo zachovat oblasti přirozeného výskytu hlívy máčkové, které byly zdevastované nepovoleným sběrem. Pěstování hlívy máčkové započalo v jižní Itálii v 70 a od roku 1993 především se pěstuje v zemích jihovýchodní Asie (Čína, Jižní Korea, Tchajwan) a v Evropě v Itálii, Německu, Francii a Nizozemsku (Jablonsky et al. 2019). letech a od té doby se rozšířilo do dalších zemí Evropy a částí světa (Jablonsky et al. 2019). Se liší od ostatních druhů hlívy svými nároky na pěstování. Na rozdíl od dřevobytných hub je hlíva

máčková náročnější na teplotní ošetření substrátu pro jeho pomalejší kolonizaci a má specifické teplotní nároky pro nasazení a vývoj plodnic.

Hlíva máčková nejlépe roste na obohaceném pilinovém substrátu ve sterilizovatelných pytlích z PP nebo HDP. Může se také pěstovat na slámě, ale výnos bude nižší než u jiných druhů hlív. Běžně se pěstuje na substrátu z pilin listnatého dřeva s přidavkem rýžových nebo pšeničných otrub. Substrát se sterilizuje ve v autoklávu při 110-120 °C po dobu 1-2 hodin nebo se pasterizují při 95 °C po dobu 24 hodin, ale může stačit i 90 °C. V nedostatečně teplotně ošetřeném substrátu se mohou objevit konkurenční houby rodu *Trichoderma spp.*, *Penicillium spp.* atd (Jablonsky et al. 2019). Substrát prorůstá myceliem po dobu 30-40 dnů, poté se ukládá do pěstírny na 10 dnů do teploty 14 °C, kde se nasadí zárodky plodnic.

Pěstování hlívy máčkové je náročné a výnosy kolísají. Plodnice se na bloku vyvíjejí postupně a sklízí se v různé velikosti. (Jablonsky et al. 2019) Na rozdíl od jiných hlív může hlíva máčková profitovat z pokrytí technou vrstvou zeminy (tzv. casing overlay) (Carrasco et al. 2018), která se skládá z rašeliny a vermikulitu. Tato vrstva pomáhá udržovat vlhkost a chrání citlivé zárodky plodnic během jejich vývoje v plodnice. Někteří pěstitelé pokrývají povrch substrátu vrstvou zeminy, aby chránili zárodky plodnic (Carrasco et al. 2018).

Na rozdíl od hlívy ústřičné je u hlívy máčkové nutné velmi šetrně navodit podmínky fruktifikace a zejména pečlivě kontrolovat relativní vlhkost. Jednoduchým řešením, kterým regulují někteří pěstitelé relativní vlhkost Vzduchu, je pokrytí substrátem vystaveným k fruktifikaci vlhkou látkou nebo papírem, aby se zajistila stabilní a vysoká relativní vlhkost. Jinde navozují stabilní vlhkost při tvorbě plodnic tak, že po deseti dnech při teplotě 14°C začínají nasazovat zárodky plodnic v. 95-100%, koncentraci CO₂, 800 ppm a osvětlení 250 luxů. Jakmile se vytvoří na povrchu substrátu v plodničky o velikosti 5-10 mm, většina plodnic odstraní a ponechají se 2-3, ze kterých se posléze vyvinou mohutné, pevné plodnice, V průběhu růstu nasazených plodnic se relativní vlhkost snižuje na 80 %. Po 60-65 dnech se zahajuje sklizeň. Při dodržení optimálních podmínek dosahuje výtěžnost až 20 % hmotnosti substrátu. Důležité je přiměřené větrání pěstírny. Využíváním vlivu zvýšené koncentrace CO₂ se dosahují tak plodnic s dlouhým a silným třeněm. Skladovatelnost plodnic hlívy máčkové je delší než u hlívy ústřičné a umožňuje dopravu na větší vzdálenosti (Jablonsky et al. 2019).

3.8 *Pleurotus elaeoselini*

Pleurotus elaeoselini je varieta druhu *Pleurotus eryngii* (hlíva máčková). Tento druh je spojen s rostlinou *Elaeoselinum asclepium* známá také jako šutranka. Je původem z oblastí kolem Středozemního moře, Blízkého východu a severní Afriky, ale je také pěstován v mnoha částech světa (Jablonsky et al. 2019).

3.9 *Pleurotus nebrodensis*

Hlíva sicilská (*Pleurotus nebrodensis*) je varieta druhu *Pleurotus eryngii* (hlíva máčková) tvořící plodnice s bílou barvou klobouku, který roste na vápencových substrátech v pastvinách obsahujících *Cachrys ferulacea* známá také jako kadidlovka, trvalkou z čeledi Apiaceae (Jablonsky et al. 2019). Je to kritický ohrožený v přírodě. *Pleurotus nebrodensis* je považován za obtížně pěstovatelnou houbu. Tato houba je endemit vyskytující se na omezeném území Parco delle Madonie poblíž města Cefalú na severozápadě Sicílie (Jablonsky et al. 2019) a severu Peloponésu kde roste na roztroušených místech v nadmořské výšce od 1 200 do 2 000 metrů (Jablonsky et al. 2019). Vzhledem k tomu, že se plodnice objevují v malém počtu a navíc jsou sbírány ještě nezralé, nestačí plodnice vytvořit zralé spory. Tím se značně omezuje její přirozené generační množení pomocí spor. Odhaduje se, že sezoně vytvoří 250 plodnic (Jablonsky et al. 2019). Je uvedena v Červeném seznamu ohrožených druhů hub.

3.10 Black pearl



Obrázek 1: Plodnice na povrchu substratu kryté zeminou

3.10.1 Původ

Pleurotus “Black Pearl” byl získán v Japonsku u firmy Hokuto Corp. nový kmen označený jako MH006404 nebo BP “Black Pearl”. Houbu podrobně popisuje patent: CA2878902C. Je to hybridní odrůda, která vznikla křížením evropské a asijské odrůdy *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer a *Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Quel., *Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Quel. var. *elaeoselini*, *P. nebrodensis* (DC.:Fr.) Quel (Ishikawa et al. 2012).

V případě mezidruhových hybridů se řízení pěstování liší v závislosti na produkovaných odrůdách a podmínkách pěstování rodičovských odrůd. To usnadňuje produkci několika mezi druhových hybridů a výběr mezi druhového hybridu přizpůsobeného prostředí růstu.

Při selekce BP se postupovalo opakovaným křížením monokaryotických mycelií různých druhů hub rodu *Pleurotus* v duální kultuře. Monokaryotické hyfy byly získány z jednobuněčných spor vybraných rodičovských druhů: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus nebrodensis*, *Pleurotus eryngii* a jeho variet *Pleurotus eryngii* var. *elaeoselini* (Ishikawa et al. 2012).

Konkrétně byl proces proveden takto:

Křížením *P. ostreatus* s *P. nebrodensis* byl získán kříženec 1.

Křížením *P. eryngii* s *P. eryngii* var. *elaeoselini* byl získán kříženec 2.

Křížením křížence 1 s křížencem 2 byl získán kříženec 3.

Křížením křížence 3 s *P. ostreatus* byl získán kříženec 4.

Křížením křížence 4 s *P. eryngii* byl získán kříženec 5.

Křížením křížence 5 s *P. ostreatus* byl získán kříženec 6.

Nakonec byl kříženec 5 zkřížen s křížencem 6.

V každém kroku byla vybrána jedna varieta po pečlivém zkoumání jejího tvaru a dalších charakteristik. Tento postup selekce pomohl vytvořit nové variety s požadovanými vlastnostmi, jako je tvar, velikost, chuť nebo odolnost vůči nemocem (Ishikawa et al. 2012). Tvůrci provedli analýzu genetických charakteristik hybridní houby BP. V prvním kroku byla určena básová sekvence v ITS regionu (interní transkripční spacerový region) ribozomální DNA šesti kmenů hub, včetně *P. ostreatus*, *P. nebrodensis* a *P. eryngii* a jejich variant. DNA byla extrahována pomocí extrakční sady a následně byla amplifikována PCR metodou s použitím specifických primerů ITS1 a ITS4 a následně sekvencování bylo provedeno (Ishikawa et al. 2012). V druhém kroku byla na základě básové sekvence v ITS regionu každého z těchto kmenů vypočítána evoluční vzdálenost pomocí parametrické metody (Ishikawa et al. 2012). Na základě výsledků byla provedena finální identifikace. Zjistilo se, že BP je velmi homologní s oběma sekvencemi “*P. eryngii*” a “*P. ostreatus*”. Toto zjištění potvrzuje, že BP obsahuje geny obou těchto druhů (Ishikawa et al. 2012).

Ve Španělsku byl dodatečně zjištěn genetický profil tohoto hybridu, byla provedena genetická analýza ukazující následující shody s databází sekvencí:

ITS: Nejlepší shoda byla nalezena s *Pleurotus ferulaginis* s podobností 65%.

ITS-Forward: Shoda 97% s *Pleurotus ostreatus*.

TEF1: Shoda 97% s *Pleurotus eryngii*.

RPB2: Shoda 92% s *Pleurotus eryngii*.

Lze konstatovat, že získaný hybrid má vlastnosti *P. ostreatus* a *P. eryngii*

Problémem, který tvůrce odrůdy BP chtěl řešit, bylo najít kombinaci, která může být křížena mezi domácí japonskou odrůdou a cizí odrůdou a poskytnout nový druh, který má charakteristiky obou – domácí a cizí odrůdy. Tento druh se nazývá mezidruhový hybrid. Současně se jedná o techniku spojenou s metodou pro vývoj takového mezi druhového

hybrida. Metoda křížení pro produkci mezirodového hybridu BP zahrnuje izolaci a kultivaci monokaryotických hyf z obou mateřských hub, jejich společnou kultivaci na agarovém médiu pro vytvoření dikaryotické hyfy, izolaci vzniklého hybridního křížence a jeho pěstování na vhodném médiu, přičemž lze využít i další biotechnologické metody, jako je fúze buněk a genový transfer (Ishikawa et al. 2012).

S cílem řešit výše uvedený problém a výsledkem selekce a postupného křížení. Tvůrci dosáhli svých cílů. Postupným výběrem a křížením dosáhli následujících výsledků, dva křížence z nichž jeden byl označen jako MH006404 nebo BP “Black Pearl”. V průběhu svého růstu nejprve připomíná *P. eryngii* a později zraje do podoby *P. ostreatus*. Tato houba má hustou a masitou strukturu a nabízí unikátní chuťový zážitek. Je bohatá na živiny může být použita v kuchyni a dá se předpokládat že podobně jako jeho rodičovskými druhy může mít léčebné účinky (o tom nebyly nalezené žádné publikace) a může být použita k mykoremediaci atd.

3.10.2 Popis

Doba inkubační 21 dní, doba dozrávací 12 dní, výnosová schopnost 31.6%.

Tvar klobouku plochý, s okraji zatočenými dovnitř. Po dozrání je střední část klobouku mírně prohloubená a zatočení na okraji je oslabené. Povrch je hladký. Velikost klobouku: 35-45 mm. Barva klobouku šedo-hnědá, pozorovány tenké vláknité vzory.

Velikost třeně 60-70 mm x 8-9 mm a tvar válcovitý. Barva třeně bílá, povrch je hladký a vnitřek je pevný.

Lamely sestupující po třeni, konec je hladký, barva šedobílá.

Bazidie dlouhé, klubičkovité, 4-výtrusový typ, velikost bazidií: 24–27 μ m×5–7 μ m.

Tvar bazidiospor válcovitý, velikost bazidiospor 6,5–10,5 μ m, barva bazidiospor bílá

Tvar cheilocystidií klubičkovité, velikost cheilocystidií 19.0–23.0 μ m.

Chuť a aroma unikátní, textura střední tvrdost (Ishikawa et al. 2012).

3.10.3 Pěstování

Tradiční metody pěstování hlív rodu *Pleurotus* jsou základem pro pěstování BP. Standardní substrát pro pěstování mateřských odrůd hlíva ústřední a hlíva máčková je obvykle vhodný, ale někdy může být třeba upravit jeho složení tak, aby odpovídalo specifickým potřebám BP, což vyžaduje znalosti v oblasti pěstování hub. Jako substrát se používají různé druhy dřevní hmoty a zemědělských odpadů, včetně pilin, kukuřičných klásků, bavlníkových slupek,

kokosových vláken, rýžové slámy, sušených řepných řízků, sójových slupek, sójové moučky, kukuřičných krup, pšeničných otrub, ječmene, ova, plev, kukuřičných otrub, kukuřičné moučky, kukuřičných vláken, slupek, , výlisků řepkového, sezamového, sezamového oleje, .. Také se využívá odpad a kal z potravinářské výroby, jako jsou tofu odpad a pivovarské mláto. Pro pěstování se používají lahve nebo sáčky. Lahve jsou vhodné pro průmyslové pěstování díky usnadnění mechanizace práce.

Při přípravě substrátu se po promíchání vybraných materiálů přidá voda do vlhkosti 60-70%, substrát se naplní do lahve, sterilizuje teplem, očkuje a následně se kultivuje. Kultivační komora by měla být tmavá.

Inkubace probíhá při teplotě 20-23 °C, ideálně 22 °C, vlhkosti 80-90% a ventilaci, která udržuje koncentraci CO₂ pod 3000 ppm. Optimální růst okolo pH 6,5 a BP je dobře v rozmezí od pH 4,5 do pH 9,0.

Řízení nasazování primordií a jejich růstu se provádí při teplotě 14-15 °C, vlhkosti 80-90% a ventilaci, která udržuje koncentraci CO₂ pod 750 ppm. Během klíčení a růstu se používá osvětlení asi 100 luxů z fluorescenční lampy (Ishikawa et al. 2012).

Optimální teplota růstu hyfy na bramboro-dextrózovém agaru bylo kolem 28°C. Navíc hyfy téměř nerostly při 5°C a růst byl extrémně slabý při 34°C (Ishikawa et al. 2012).

4 Metodika

4.1 Zrnitá sadba a její příprava

Pro potřeby pokusu byla zvolena zrnitá sadba, na jejíž přípravu bylo použito zrno pšenice. Pšenice byla vařena ve vodě v poměru 1:2 (1 díl zrna: 2 dílům teplé vody) po dobu 30-40 min do požadované měkosti. Následně byla přebytečná voda scezena. Poté co pšenice vychladla a oschla bylo do ní přidáno 2-5 % sádry. Vše bylo pečlivě promícháno. Vzniklou směsí byly plněny sklenice od mléka do 2/3. Naplněné nádoby byly opatřeny vatovými zátkami a zakryty alobalem. Sklenice prošly sterilizací v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 3 hodin. Vysterilizovaná a zchladlá zrna byla ve flow-boxu naočkována myceliem kmenů hub rodu *Pleurotus*. Naočkované sklenice byly označeny názvem houby a datem očkování. Sadba prorůstala v místnosti se stabilní teplotou 24 °C a bez přístupu světla po dobu 14 dnů. Během prorůstání bylo potřeba sadbu několikrát protřepat, aby nedošlo ke slepení zrn a zároveň, aby

se mycelium rozšířilo po celé sklenici. Kompletně prorostlá sadba, která je prostá kontaminace jinými druhy hub, je připravena k použití.

4.2 Sladinový agar a jeho příprava

12 g agar

10 g slad

500 ml ... voda

Množství jednotlivých složek pro přípravu agaru bylo naváženo na laboratorní váze. Přesné množství všech komponentů bylo smícháno v kuželové baňce, která byla následně uzavřena víčkem, které poté bylo obaleno alobalem. Takto nachystaná směs byla vysterilizována v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 20 minut. Tekutý agar o teplotě cca 43 °C byl přelit do Petriho misek ve flow-boxu. Vychladlý a ztuhlý agar byl připraven k inokulaci.

4.3 Laboratorní vybavení a materiál

- Kultivační místnost s termostatem
- Autokláv (Výrobce: Sanyo Electric, model: MLS-3781L)
- Flow-box (Výrobce: Faster; model: FlowFAST H)
- Laboratorní hořák – plynový (Výrobce: Camping Gaz, model: LABOGAZ 206 č. 202063)
- Laboratorní sklo – zkumavky, kádinky, odměrné válce, kuželové baňky se závitem
- Laboratorní váhy (Výrobce: Kern, model: PCB1000)
- Pěstební komora vybavená chlazením a regulací teploty a zvlhčováním vzduchu. Během jeho provozu se nekontrolovaně měnily v důsledku špatného projektu hodnoty teploty a vlhkosti a ovlivňovaly výsledky pokusů. Box byl osvětlen intenzitou 500-1000 lux.
- Jednorázové plastové Petriho misky
- Slaměné pelety firmy GRANOFYT Chrášťany
- Sójové slupky, CHOCOLAND Kolín
- Polypropylenové sáčky s filtry (Výrobce: Unicorn Imp. & Mfg. Corp., Typ: **4B**)
- Q-Celle –termostaty s nastavitelnou teplotou a vlhkostí vzduchu
- Svářečka na folie – stojanová páková nožní (Výrobce: Singar Sealer Co., LTD., model: KF-300DFP)

- Váhy s halogenovým křemenným zářičem (Výrobce: Kern, model: DAB 200-2) sloužící k sušení vzorků

4.4 Harmonogram pokusů

Číslo pokusu	Název a účel pokusu	Příprava substrátu/média	Očkování /založení	Ukončení
1	Porovnání růstu mycelia hlív na sladovém agaru v různých teplotách	Sladový agar	18.04.	24.04
2	Růst mycelia BP ve 3 teplotách na pšeničných peletách	Slaměné pelety	27.05.	28.06.
3	Porovnání tvorby plodnic 3 druhů hlív	Slaměné pelety	27.05.	28.06.
4	Porovnání tvorby plodnic BP na pšeničných peletách obohacených a neobohacených sojovými slupkami	Pelety obohacené sojovými slupkami	26.06.	01.08.
5	Porovnání tvorby plodnic BP při různých způsobech šokování	Pelety obohacené sojovými slupkami	27.11.	05.03

4.4.1 Pokus 1. Test růstu mycelia 3 druhů hlív ve 4 různých teplotách

Cílem pokusu bylo postihnout rozdíly vlivu teplot a kmenů hlív na rychlost růstu mycelia. Živná půda připravena smícháním 10 g sladového výtažku, 12 g agaru s 500 ml vody. Takto nachystaná směs byla vysterilizována v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 20 minut. Tekutý agar o teplotě cca 43 °C byl přelit do Petriho misek ve flow-boxu. Vychladlý a ztuhlý agar byl připraven k inokulaci. Byly použity 3 kmeny (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii* a *Pleurotus Black Pearl* dále BP) a teploty 15°C, 20°C, 25°C a 30°C Od každého z kmenů bylo zaočkováno 16 misek. Bloček agaru s myceliem vybraného druhu houby byl umístěn do středu misky. Pak byly misky od každého kmene umístěny do 4 různých teplot. Vždy po 3 dnech dnech byly měřeny přírůstky jednotlivých kvadrantech misek.

4.4.2 Pokus 2. Růst mycelia BP ve 3 teplotách na peletách z pšeničné slámy

Cílem pokusu bylo ověřit vliv teploty na růst mycelia BP při kolonizaci slaměných pelet. Pelety byly namočeny ve vodě a doplněny vodou na 65% vlhkosti, naplněny do zkumavek o rozměrech 180x35mm, zakryty shora alobalovou folií a sterilizovány při 121°C po dobu 3 hodin. Po zchladnutí byly naočkovány zrnitou sadbou kmene Black Pearl (BP) a rozděleny do 3 různých teplot: 15°C, 20°C a 24°C. Po 32 dnech byl změřen konečný přírůstek mycelia.

4.4.3 Pokus 3. Porovnání tvorby plodnic hlívy ústříčné, hlívy máčkové a jejich křížence hlívy BP

Cílem pokusu bylo srovnávání výnosu sledovaných druhů hub a kvalitu plodnic. Byl připraven substrát ze slaměných pelet vyrobených z pšeničné slámy od firmy GRANOFYT. Do čisté 10 litrové nádoby byly nality 4 litry vřelé vody, přidány 2 kg slaměných pelet a rychle promícháno vařečkou tak, abychom i suché pelety rychle smíchali s horkou vodou. Pelety totiž během několika vteřin začnou rychle zvětšovat svůj objem. Substrát byl několikrát zamíchán tak, abychom se ujistili, že jsou veškeré pelety stejnoměrně namočené. Nádoba se substrátem byla zakryta fólií a ponechána přes noc na teplém místě. Byl zachován poměr mezi vřelou vodou a peletami 2:1. Následující den byly smíchány zchladlé namočené pelety s 4% sadby studovaných hub, a to hlívy ústříčné, hlívy máčkové a hybridu BP a naplněny do mikroténových sáčků po 4 kg a do polypropylenových sáčků s filtrem. V mikroténových sáčcích bylo proříznuto několik otvorů, aby podhoubí mělo dostatek kyslíku. Substrát prorůstal 21 dnů. Sáčky s prorostlým substrátem byly umístěny do teploty 5°C a po 10 dnech umístěny k fruktifikaci. Účelem postupu bylo zjistit, jak se liší sklizené plodnice 3 druhů sledovaných. Současně byl sledován výnos a váhový poměr klobouku a třeně.

4.4.4 Pokus 4. Porovnání tvorby plodnic BP na pšeničných peletách obohacených a neobohacených sojovými slupkami

Cílem pokusu bylo ověřit vliv přísad sójových slupek na výnos plodnic BP. Substrát byl připraven podobně jako v předchozím pokusu ze slaměných pelet. Teplotní ošetření proběhlo smícháním pelet s vřelou vodou. 10 sáčků s obsahem 2000 g substrátu nebylo obohaceno a 10 sáčků bylo obohaceno 20% sojových slupek. Substrát jednotlivých

variant byl promíchán s 4% sadby a naplněn do sáčků. Mycelium prorostlo substrátem po dobu 21 dnů v 24°C. Myceliem prorostlé sáčky byly přeneseny do teploty 5°C na dobu 15 dnů. Aby se zabránilo tvorbě plodnic z boku byly shora obvod sáčků zpěvněn gumou čímž se předpokládalo omezení tvorby plodnic z boku.

4.4.5 Pokus 5. Porovnání tvorby plodnic BP při různých způsobech šokování

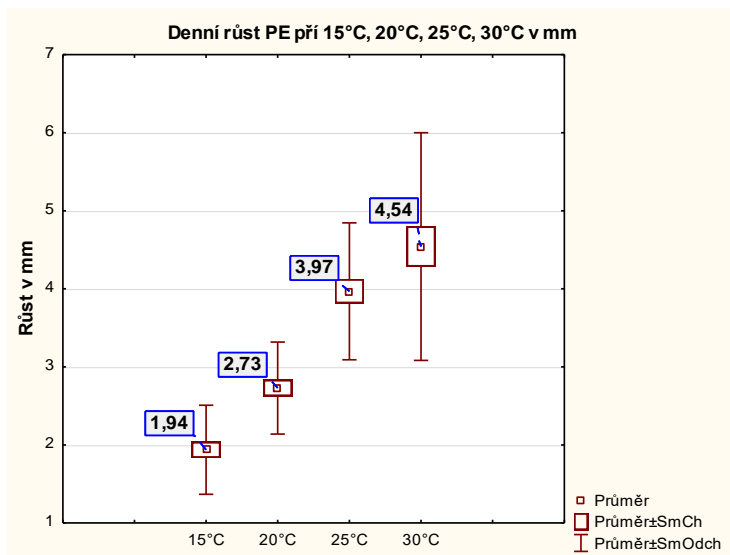
Cílem pokusu bylo zjistit nasazení a výnos plodnic na blocích s volným povrchem slaměných pelet v porovnání s krytím povrchu malou vrstvou zeminy. Substrát byl připraven ze slaměných pelet obohacených 20% sójových slupek, jeho vlhkost byla nastavena na 65% a naplněn po 1000 g do úzkých sterilizovatelných sáčků. Substrát byl vysterilizován v autoklávu při 121°C po dobu 3 hodin. Zchladlý substrát byl naočkován shora sadbou hybridu BP. V teplotě 24°C mycelium prorůstalo až na dno sáčků po dobu 50 dnů. Myceliem prorostlý substrát v sáčcích byl přenesen do teploty 5°C na dobu 15 dnů. Sáčky byly následně přeneseny do pěstírny s teplotou 18°C a relativní vlhkostí 80%. Sáčky byly otevřeny a povrch poloviny variant substrátu byl do hloubky 20 mm prohrabán. U zbývající poloviny sáčků byl povrch substrátu zakryt 20 mm krycí zeminy. Všechny sáčky byly při založení pokusu k fruktifikaci mírně na povrchu zality a v sáčcích byla mírným rosením udržována taková vlhkost, aby substrát či zemina neoschly před nasazením zárodků. Bylo sledováno nasazování, tvar a výnos plodnic. V průběhu pokusu značně kolísaly podmínky prostředí, a to teplota a r.v. v důsledku nevhodně vyprojektované klimatizace (viz Graf č.5.4.).

5 Výsledky

5.1 Pokus č. 1

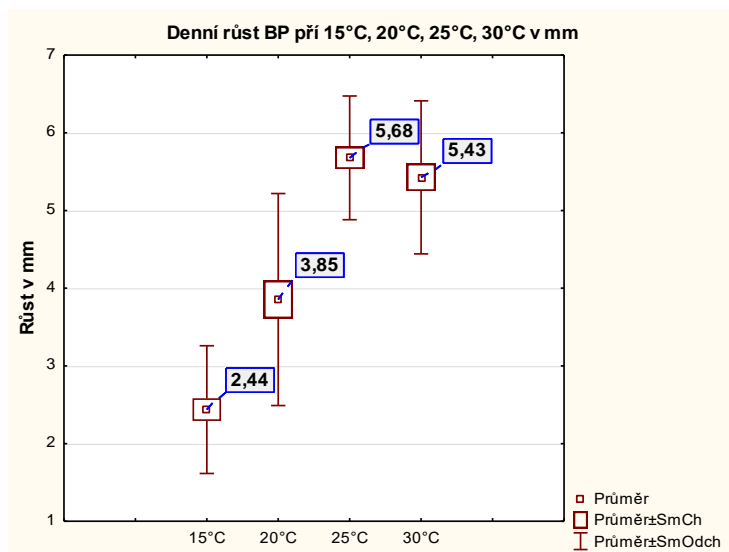
Test růstu mycelia 3 druhů hlív ve 4 různých teplotách

Graficky zpracované výsledky měření průměrného denního růstu v mm pro mycelium hlívy máčkové při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C (viz graf č.1.1).



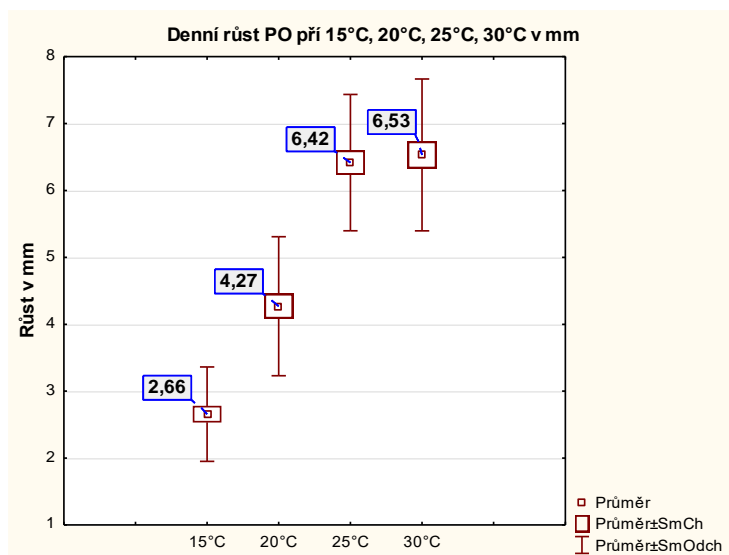
Graf č.1.1: Průměrný denní přírůstek mycelia hlívy máčkové v mm při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C

Výsledky měření průměrného denního růstu v mm pro mycelium BP při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C (viz graf č.1.2).



Graf č.1.2: Průměrný denní přírůstek mycelia BP v mm při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C

Graficky zpracované výsledky měření průměrného denního růstu v mm pro mycelium hlívy ústříčné při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C (viz graf č.1.3).



Graf č.1.3: Průměrný denní přírůstek mycelia hlívy ústříčné v mm při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C

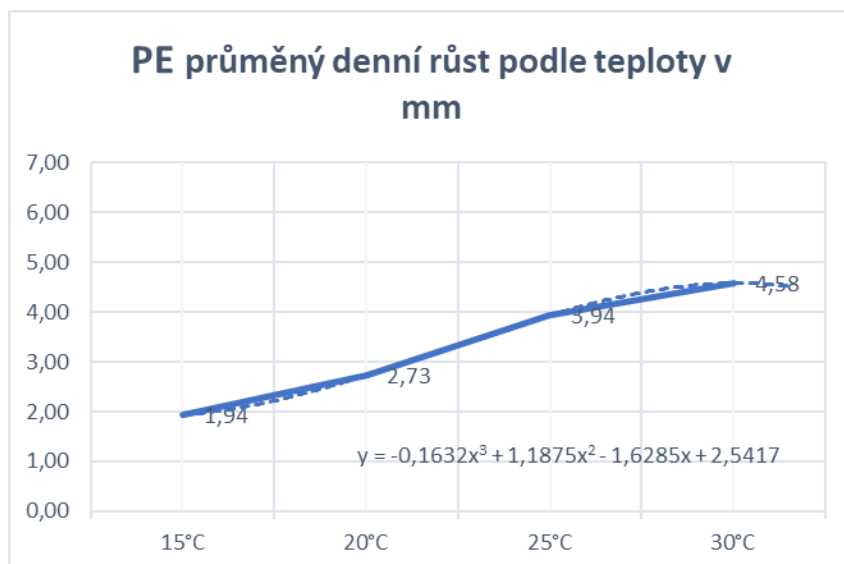
Při kultivaci mycelia na sladovém agaru byly měřeny přírůstky mycelia každý 3. den. Kmen hlívy máčkové (PE), vykázal nejskromnější přírůstky mycelia při všech sledovaných teplotách. Maximální růst mycelia u tohoto kmene byl dosažen při teplotě 30°C.

U kmene BP byl pozorován maximální růst mycelia při teplotě 25°C. Růst mycelia při teplotě 30°C byl menší než při teplotě 25°C.

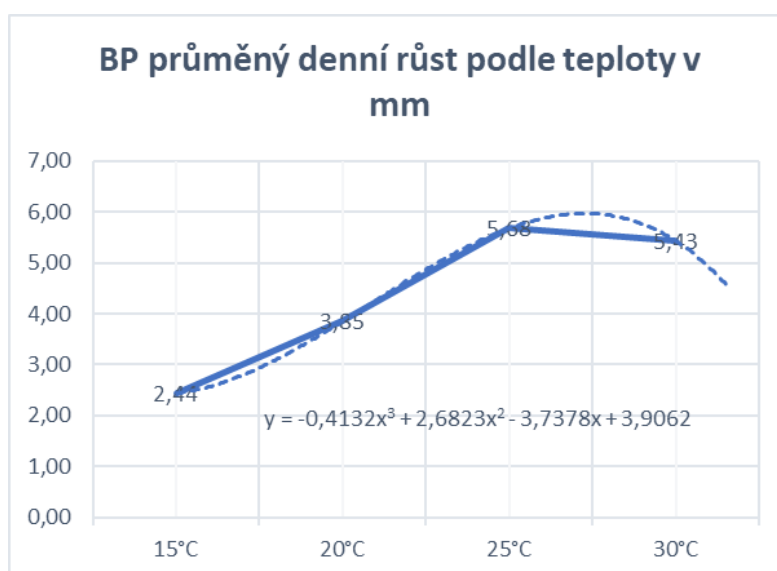
Nejvyšší přírůstky mycelia byly dosaženy u kmenu hlívy ústříčné (PO), konkrétně kmene Spoppo. U tohoto byl zaznamenán zvýšený růst mycelia při teplotě 30°C ve srovnání s růstem mycelia při teplotě 25°C.

Tato data ukazují, že růst mycelia se může lišit v závislosti na teplotě a druhu kmenů. Pro další optimalizaci kultivace je důležité tyto faktory zohlednit.

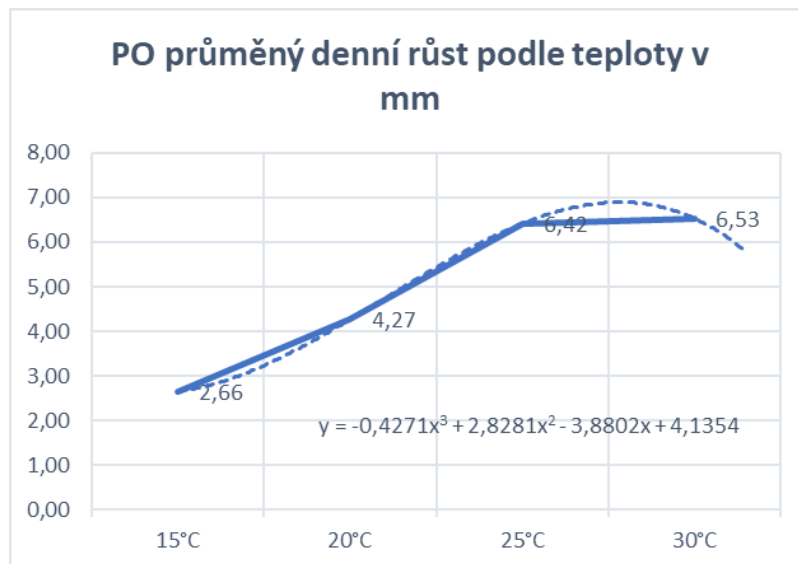
Pro určení přibližné teplotní oblasti maximálního růstu pro BP, PO a PE lze předpokládat vhodnost použití polynomiální funkce třetího řádu pro modelování funkce rychlosti růstu v závislosti na teplotě, když jsou dostupné čtyři hodnoty průměrné teploty pěstování v tomto pokusu (viz grafy č.1.4, č.1.5, č.1.6).



Graf č.1.4: Modelování funkce rychlosti růstu v závislosti na teplotě při použití polynomiální funkce třetího řádu pro hlívu máčkovou.



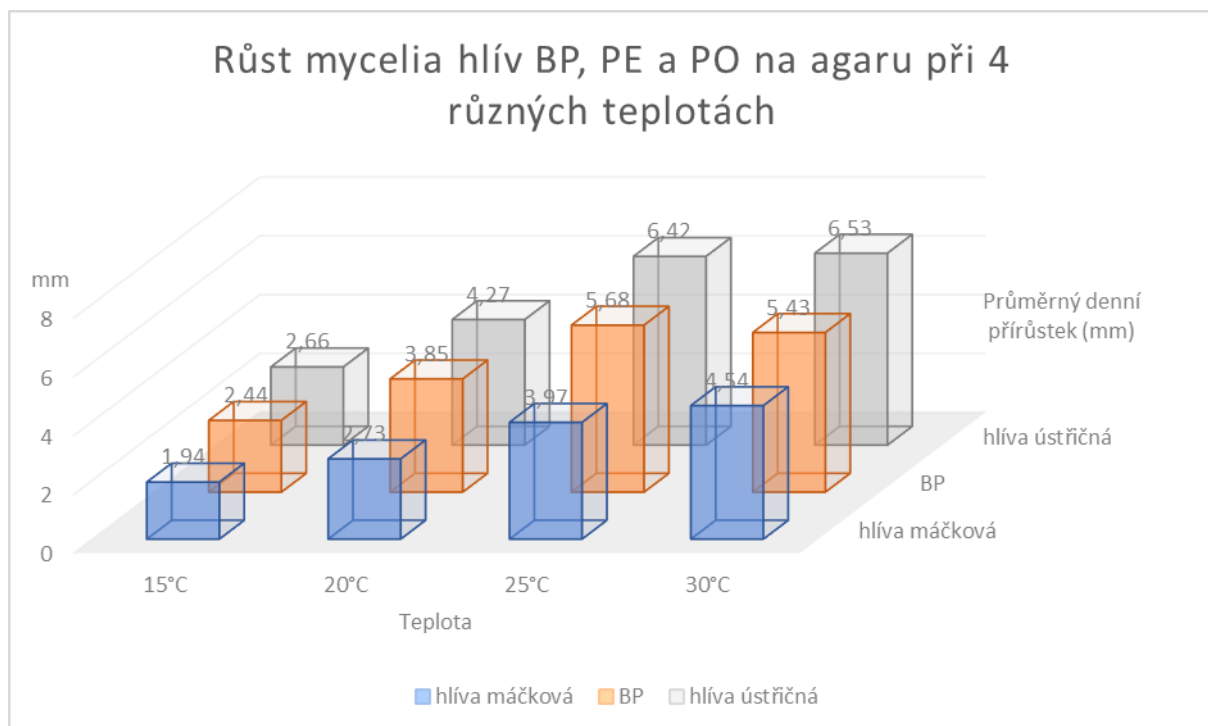
Graf č.1.5: Modelování funkce rychlosti růstu v závislosti na teplotě při použití polynomiální funkce třetího řádu pro BP.



Graf č.1.6: Modelování funkce rychlosti růstu v závislosti na teplotě při použití polynomiální funkce třetího řádu pro hlívu ústříčnou.

Z grafických zobrazení byly určeny předpokládané optimální hodnoty růstu: pro PE 30°C, pro BP 27.5°C a pro PO 28°C. Výsledná hodnota 27.5°C pro BP dostatečně odpovídá popisu poznatků, kde je optimální teplota růstu mycelia BP po očkování do agaru kolem 28°C.

Společné graficky zpracované výsledky měření průměrného denního růstu v mm pro mycelium hlívy máčkové, BP a hlívy ústříčné při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C jsou znázorněny v grafu č.1.7.

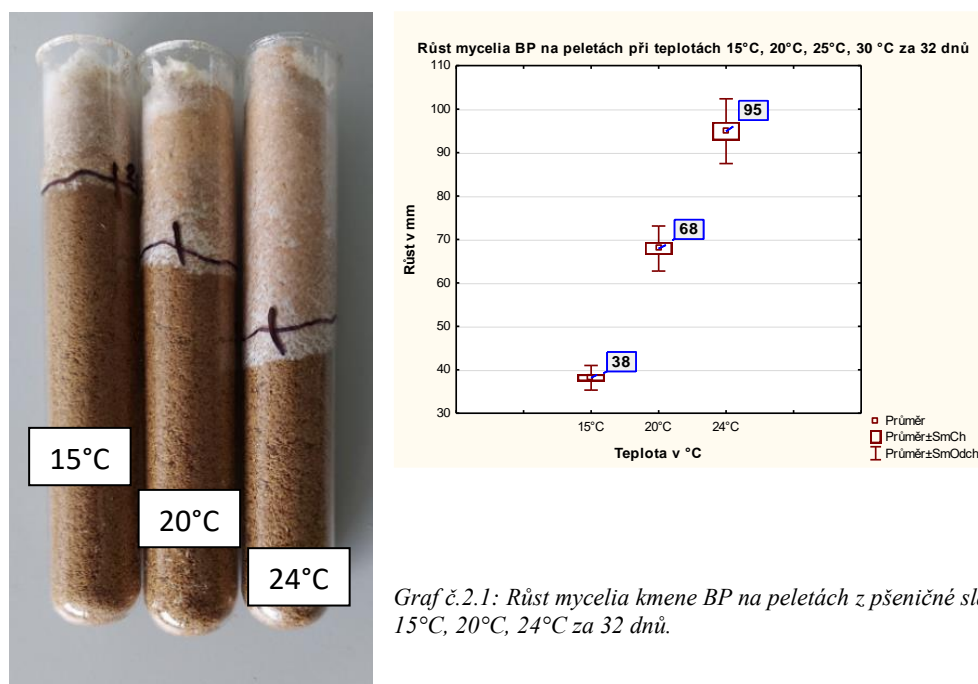


Graf č.1.7: Průměrný denní přírůstek mycelia BP, PE a PO v agaru při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C.

5.2 Pokus č. 2

Růst mycelia BP ve 3 teplotách na peletách z pšeničné slámy

Graficky zpracované výsledky měření růstu v mm pro BP při sledovaných teplotách 15°C, 20°C a 24°C na peletách z pšeničné slámy jsou znázorněny v grafu č.2.1.



Graf č.2.1: Růst mycelia kmene BP na peletách z pšeničné slámy při teplotách 15°C, 20°C, 24°C za 32 dnů.

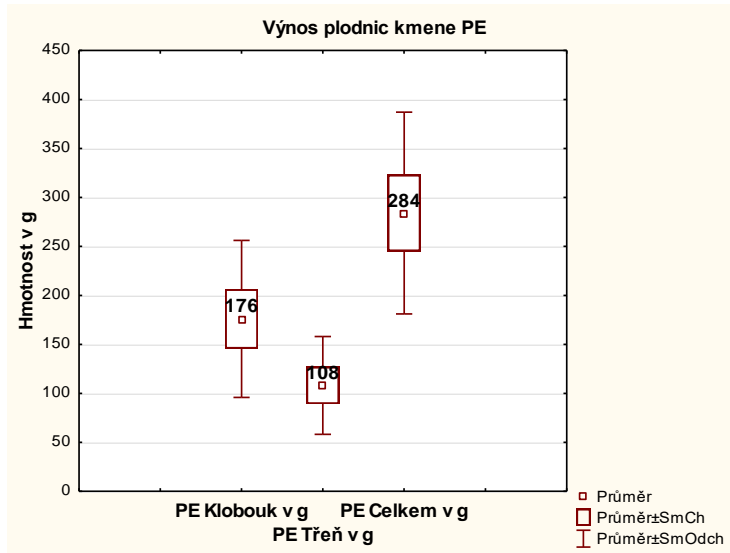
Obrázek 2: Růst mycelia kmene BP ve 3 teplotách na peletách z pšeničné slámy.

Byla sledována rychlost kolonizace substrátu z pšeničných pelet. Pelety byly po namočení v horké vodě naplněny do zkumavek o rozměrech 180x35 mm. Po uzavření Al fólií byly zkumavky se substrátem sterilizovány při 120°C po dobu 3 hodin. Mycelium BP bylo ve formě zrnité sadby očkováno na povrch substrátu. Přírůstky mycelia byly měřeny po 32 dnech. Opět se potvrdilo, že nejrychlejší kolonizaci dosáhlo mycelium BP při teplotě 24°C.

5.3 Pokus č. 3

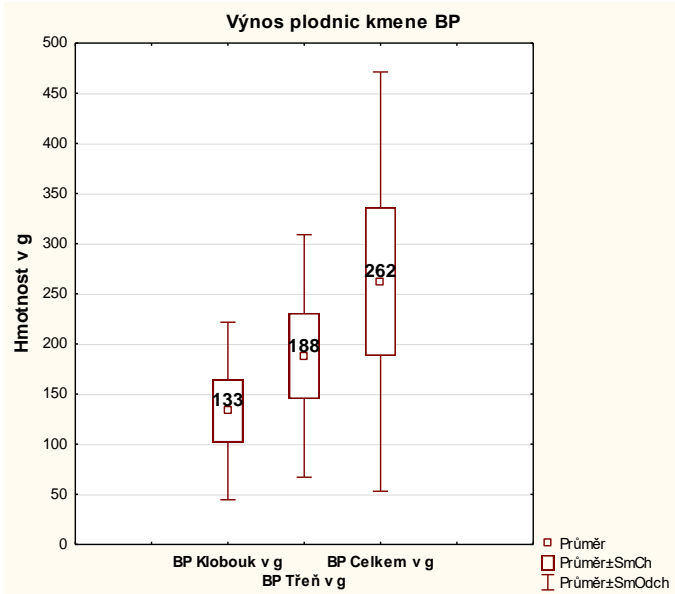
Porovnání výnos a váhový poměr klobouku a třeně hlívy ústříčné, hlívy máčkové a jejich křížence hlívy BP

Podíl hmotnosti klobouku a třeně a výnos hlívy máčkové (viz graf č.3.1).



Graf č.3.1: Porovnání průměrné hmotnosti klobouku, třeně a celkový výnos hlívy máčkové.

Podíl hmotnosti klobouku a třeně a výnos kmene BP (viz graf č.3.2).

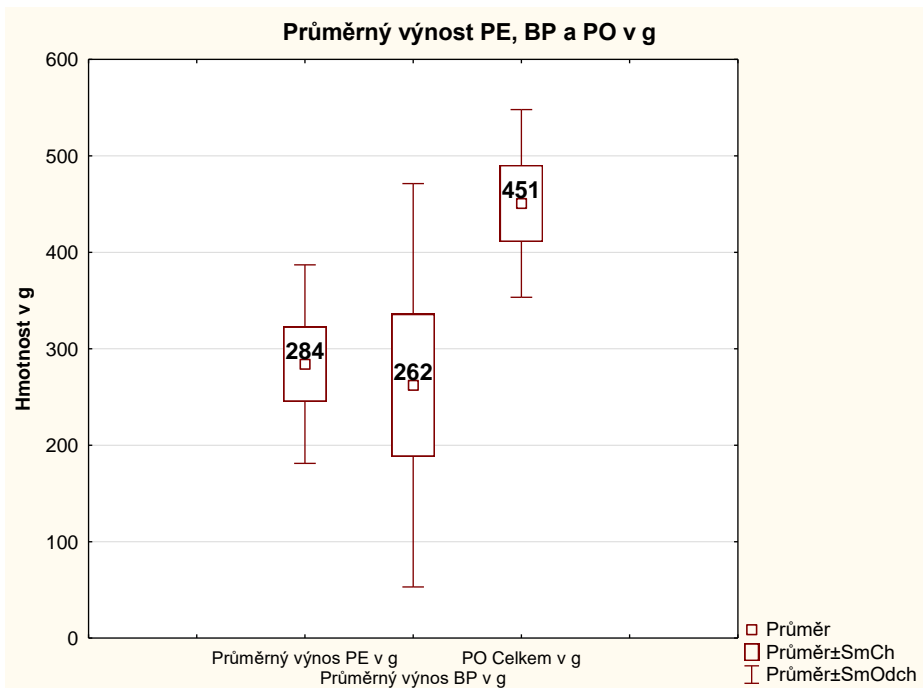


Obrázek 3: Pokus č. 3 hlyva BP

Graf č.3.2: Porovnání průměrné hmotnosti klobouku, třeň a celkový výnos hlívy BP

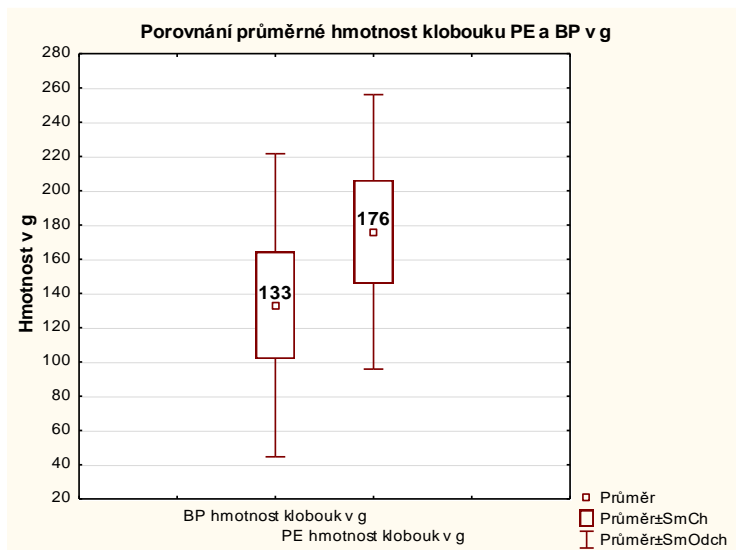
Porovnání průměrného výnosu plodnic hlívy ústřičné, hlívy máčkové a BP.

Při srovnávání výnosu sledovaných druhů hub byl nejvyšší výnos zaznamenán u hlívy ústřičné, hlíva máčková a BP dosáhly srovnatelného, ale nižšího výnosu než hlíva ústřičná. Výsledky měření jsou znázorněny v grafu č.3.3.



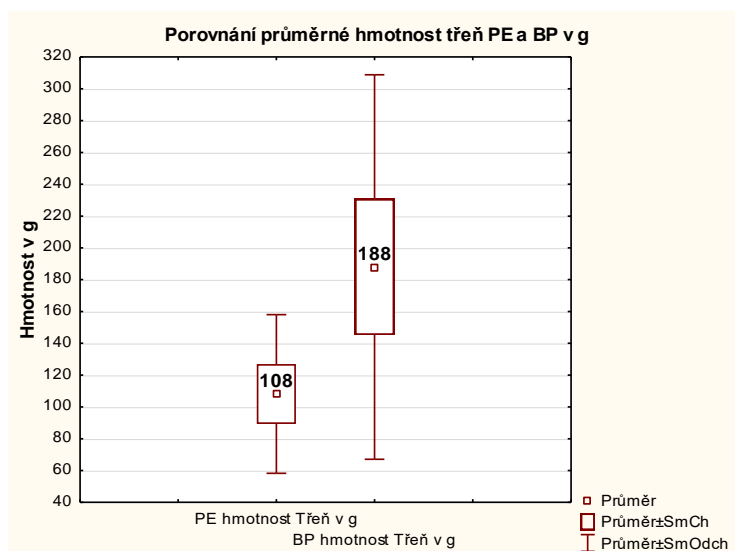
Graf č.3.3: Porovnání průměrné hmotnosti celkového výnosu hlívy máčkové, hlívy ústříčné a hlívy BP.

Co se týče hmotnosti klobouků, kmen hlívy máčkové dosáhl větší hmotnosti než hlíva BP (viz graf č.3.4).



Graf č.3.4: Porovnání průměrné hmotnosti kloboučku u hlívy máčkové a hlívy BP.

V případě porovnání průměrné hmotnosti třeňů se ukázaly třeně plodnic hlívy BP prokazatelně statisticky významně těžší než třeně hlívy máčkové (viz graf č.3.5).



Graf č.3.5: Porovnání průměrné hmotnosti třeň u hlívy máčkové a hlívy BP.

Při hodnocení kvality plodnic je důležitá především hmotnost a průměr třeňů plodnic, které jsou zohledněny při jejich kuchyňské úpravě (viz obrázek č3).



Obrázek č.4: Plátky plodnice BP vhodné pro kuchyňskou úpravu

5.4 Pokus č. 4

Porovnání tvorby plodnic BP na pšeničných peletách obohacených a neobohacených sojovými slupkami

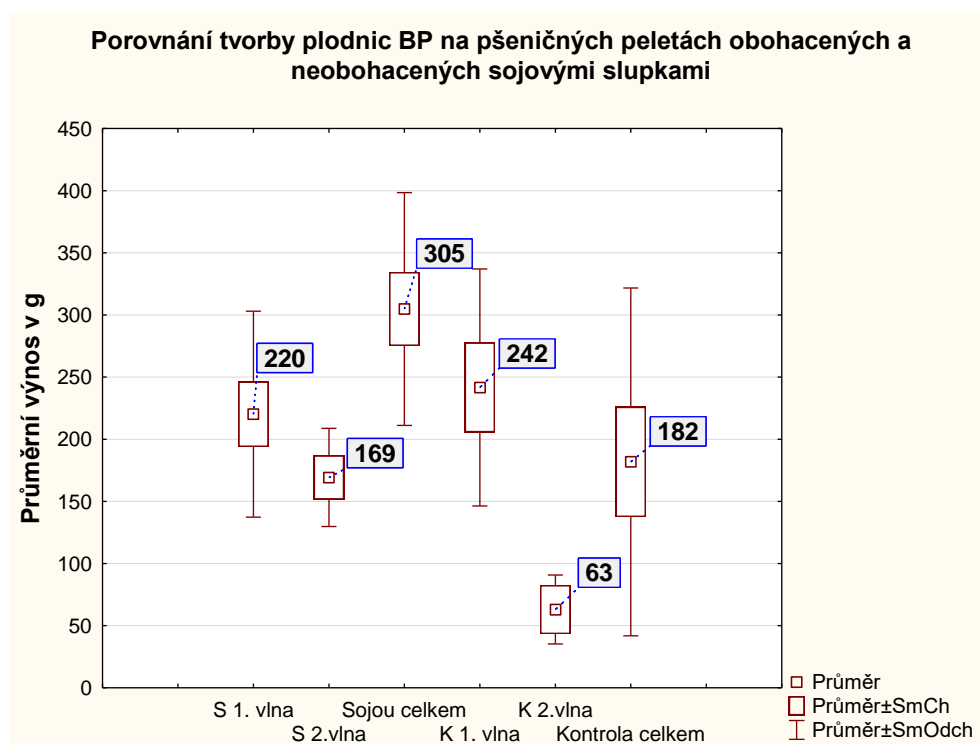
Výsledky kolonizace substrátů myceliem ukázaly, že po pouhém prolití pelet vřelou vodou nemusí mycelium BP zcela kolonizovat substrát. Jak ukazuje následující tabulka č. 4.1, v některých blocích substrátu byla zaznamenána místa kontaminovaná zelenou plísní.

Císlo bloku a varianty	
K 1	100% prorostlá
K-2	100% prorostlá
K-3	80% 2 zelené (Z)
K-4	80% dno není
K-5	100% prorostlá
K-6	Dno trochu neprorostlé
K-7	100% u dna malá Z
K-8	90% u dna neprorostlá
K-9	70%
K-10	100% prorostlá

S-1	6 Z
S-2	100% prorostlá
S-3	3 drobné Z
S-4	5 Z
S-5	U rohu velká Z u dna
S-6	Zenelá na ploše 20%
S-7	U dna malá Z
S-8	100%
S-9	100% prorostlá
S-10	5 malých Z
S-11	100% prorostlá

Tab. č. 4.1: Hodnocení prorostení substrátů po 32 dnech

Porovnání průměrného výnosu plodnic hlívy BP ze substrátu obohaceného 20% sójových slupek byl prokazatelně vyšší než na kontrolním neobohaceném substrátu (viz Tab. č.4.1).



Graf č.4.1: Porovnání průměrného výnosu plodnic hlívy BP na pšeničných peletách obohacených sójovým slupkami.

I přes připevnění fólie s gumičkou shora (viz obrázky č.5, č.6, č.8 a č.9) se u některých bloků nepodařilo zabránit tvorbě plodnic pod fólií. Plodnice se vytvářely na povrchu substrátu, ale výjimečně i pod fólií (viz obrázky č.7, č.8 a č.9). Plodnice se vytvářely jak v trsech, tak i jednotlivě (viz obrázky č.5 a č.8).



Obr. č. 5: Plodnice v trsech i jednotlivě Obrázek č. 6: Plodnice v trsech Obrázek č. 7: Plodnice pod fólií



Obrázek č. 8 Plodnice pod fólií s gumičkou nahoře, plodnice v trsech i jednotlivě



Obrázek č. 9 Plodnice pod fólií s gumičkou nahoře, plodnice v trsech

5.5 Pokus č. 5

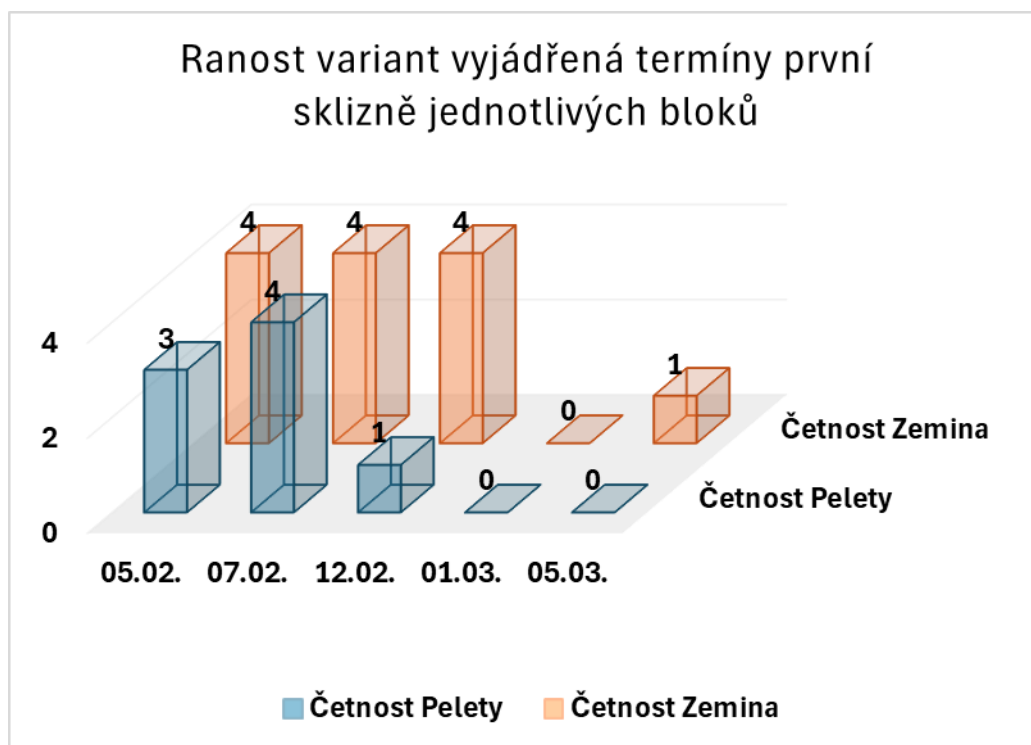
Porovnání tvorby plodnic BP při různých způsobech šokování



Obrázek č. 10 Plodnice pouze na povrchu substrátu kryté zeminou

V tomto pokusu bylo snahou ošetřením kultury docílit tvorby plodnic pouze na povrchu, a ne jejich nasazování na bocích sáček pod fólií. V důsledku našeho ošetření se to skutečně podařilo. Stálým vlhčením povrchu substrátu se eliminovaly problémy s kolísavou vlhkostí v prostředí (viz č.5.4). Výsledkem je, že se na povrchu substrátu vytvořily u obou variant plodnice, a to nekryté i kryté zeminou, a to většinou jednotlivě. Mezi poměrem třenů a

klobouků u obou variant nebylo dosaženo rozdílů. Vzhledem k tomu, že se podařilo v tomto pokusu dosáhnout tvorby plodnic pouze na povrchu byly jednotlivé plodnice těžké a větší podíl plodnic tvořily třeně. V průměrné hmotnosti plodnic se obě varianty nelišily. Pouze některé parcely u varianty kryté zeminou zaplodily nepatrně dříve než u varianty zeminou nekryté. Bylo založeno od každé varianty po 13 parcelách. U varianty bez krytí zeminou plodnice nenasadily na pět z nich.



Graf č.5.1: Ranost při různých způsobech šokování vyjádřená termíny první sklizně jednotlivých bloků



Obrázek č. 11: Plodnice na povrchu substratu kryté zeminou

Obrázek č. 12: Plodnice na povrchu substratu kryté zeminou



Obrázek č. 13: Plodnice na povrchu substratu kryté zeminou

Obrázek č. 14: Plodnice na povrchu substratu kryté zeminou



Obr. č. 15: Plodnice na povrchu substratu kryté zeminou

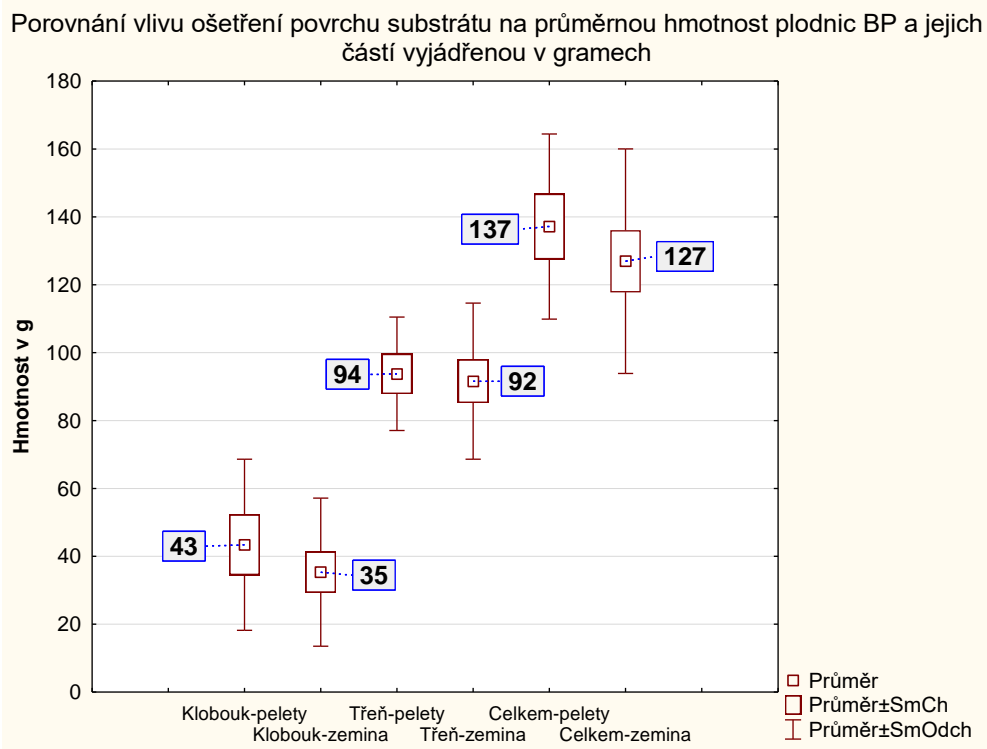
Obr. č. 16: Plodnice na povrchu substratu nekryté zeminou



Obr. č. 15: Plodnice na povrchu substratu kryté zeminou

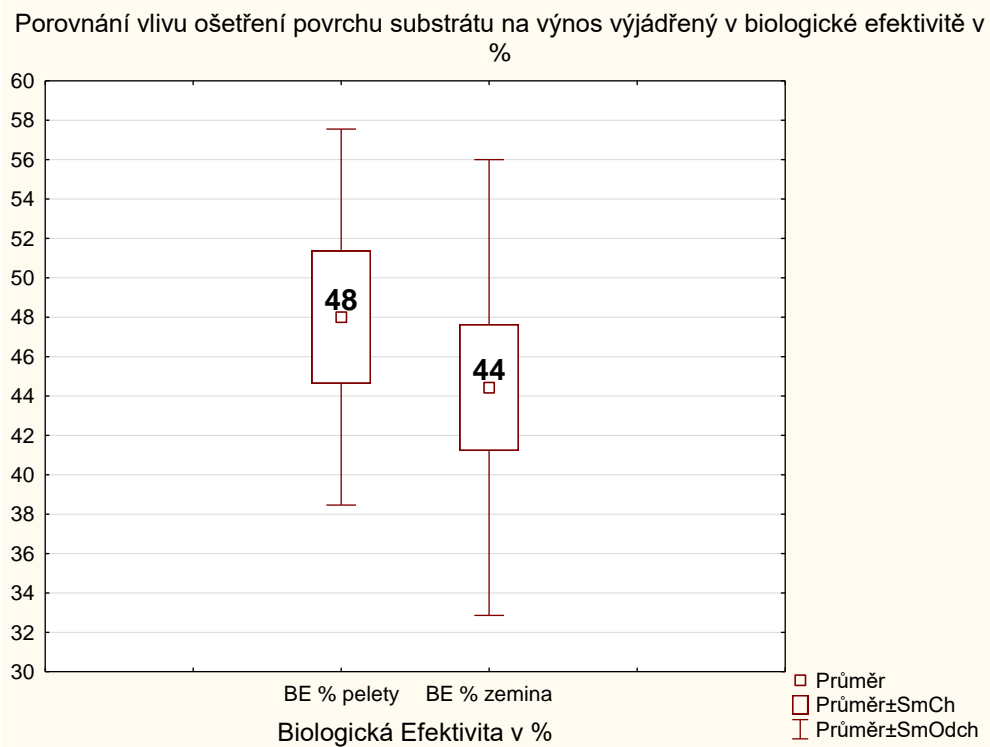
Obr. č. 15: Plodnice na povrchu substratu kryté zeminou

Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na průměrnou hmotnost plodnic BP a jejich částí



Graf č.5.2: Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na průměrnou hmotnost plodnic BP a jejich částí vyjádřenou v g

Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na výnos vyjádřený v biologické efektivitě v %

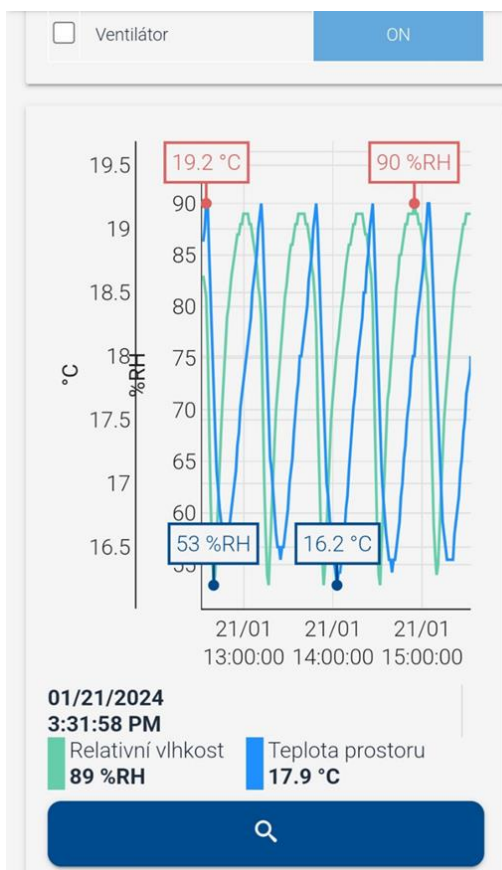


Graf č.5.3: Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na výnos vyjádřený v biologické efektivitě

Třeně BP svojí tloušťkou připomínaly třeně hlívy máčkové. Plodnice z 5. pokusu byly ověřovány z hlediska kvality při kulinářské úpravě (obrázek č.4) Silné třeně byly podélně nakrájeny a použity pro přípravu smažených řízků a také na rožnění.

Výnosy tohoto pokusu byly hodnoceny podle biologické efektivity. Ta se počítá na základě hmotnosti sklizní plodnic v čerstvém stav k obsahu substrátu vyjádřeného v sušině jednotlivých bloků. Vzorec, dle kterého bylo počítáno byl: Celková hmotnost plodnic z jednotlivého bloku (g)/ Sušina bloků jednotlivého bloku (g) * 100.

Výsledky průběžného měření r.v. a teplot ukázaly, že při nevhodně naprojektované klimatizaci celý systém regulace řádně nefungoval. (viz. graf 5.4.)



Graf č.5.4: Kolísání vlhkosti a teplota v prostředí



Obr. Č 16: Deformované plodnice vlivem zvýšené r.v.

6 Diskuze

Kmen houby BP, který je křížencem druhů *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus eryngii*, byl vyšlechtěn v Japonsku. První dostupné záznamy o této houbě, známé také jako BP, pocházejí z roku 2012. Tento kříženec by za určitých podmínek mohl nahradit hlívu máčkovou, jejíž příprava substrátu vyžaduje ošetření substrátu při vyšší teplotě než u hlívy ústřičné.

Nejdříve jsme se zaměřili na porovnání růstu mycelia tří druhů hlív na agarových plotnách. Ukázalo se, že maximální rychlosti růstu dosáhlo mycelium BP při 30°C. Avšak z modelování funkce růstu v závislosti na teplotě s pomocí polynomiální funkce třetího řádu byly určeny předpokládané optimální hodnoty růstu Black Pearl okolo 27.5°C. Tato výsledná hodnota dostatečně odpovídá popisu pěstebních podmínek uvedených v patentu vydaném v Kanadě (CA2878902C).

V našich pokusech se potvrdilo, že substrát pro BP je možné připravit jako u hlívy ústřičné na slaměných peletách spařených vřelou vodou. Metoda pěstování tohoto křížence není zatím v žádné publikaci popsána. Houbu zatím nepěstují produkční farmy, neexistují vědecké ani odborné publikace a pěstují ji zatím jen drobní zájemci.

Zaměřili jsme se na to, jak dosáhnout u BP plodnic odpovídajících tvarem hlívy máčkové, jejíž plodnice jsou tak oblíbené. V prvních kultivačních pokusech jsme porovnávali tvorbu a tvar plodnic vyvíjejících se z boku otvorů a na otevřeném povrchu substrátu. Pokud mohou vyrůst plodnice z boku nebo na velké ploše, potom jejich tvar odpovídá tvaru plodnic hlívy ústřičné. Pod fólií se z boku často tvoří velké množství zárodků, které se následně vyvíjí v deformované plodnice a prakticky se nedají využít.

V posledním pokusu jsme přistoupili k pěstování v úzkých sáčcích, kdy nad povrchem substrátu byla 10 cm vrstva folie a omezený prostor k fruktifikaci. Dosáhli jsme toho, že pod povrchem folie se z boku nevytvořily zárodky plodnic a plodnice, které nasadily na povrchu substrátu, ať už krytého nebo nekrytého zeminou, měly tvar připomínající plodnice hlívy máčkové. Z 13 parcel u varianty bez krytí zeminy se plodnice nenasadily na 5 z nich během doby trvání pokusu. Pro porovnání z 13 parcel u varianty s krytím zeminy se plodnice nasadily na 13 z nich. Lze předpokládat, že to bylo způsobeno tlumícím efektem vrstvy zeminy na výkyvy teploty a relativní vlhkosti v frutifikační komoře.

Při studiu tvorby plodnic ve třech pokusech se ukázalo, že se vytvářely plodnice různého tvaru, a to jednotlivě, v trsech, se silnými i tenkými třeněmi. Na povrchu klobouků jsme pozorovali buď lamely, které se tvoří zpod klobouku, nebo drobné bradavice. Tyto deformity, které se na plodnicích BP vytvářely ve velké míře, nebyly pozorovány na plodnicích druhů hlív, s kterými byla BP porovnávána. U *Pleurotus eryngii* se na kloboucích vytvářely bradavice pouze v menší míře. Na tvar plodnic mohla mít v některých případech vliv i zvýšená koncentrace CO₂. Průběh pokusů mohlo ovlivnit i kolísání relativní vlhkosti a teploty jako důsledek nevhodně naprojektované klimatizace v boxu (viz Graf č.5.4).

Pokud porovnáваме výskyt různých deformit plodnic, mohlo by se to připisat určité genetické nevyrovnanosti u hybridu BP. Tuto práci lze považovat za snahu o první výzkum fyziologie a technologie tohoto hybridu. Bude třeba dále prozkoumat optimální složení substrátu a vliv přísadků organického původu na výnos a upřesnit požadavky kultury na změny relativní vlhkosti během vývoje plodnic tak, aby bylo dosaženo vysoké kvality plodnic.

7 Závěr

- 1 Při porovnání růstu mycelia 3 druhů rodu *Pleurotus* (*P. ostreatus* cv. Spoppo, *P. eryngii* a BP) na plotnách s agar-sladoým médiem při 4 různých teplotách (15°C, 20°C, 25°C a 30°C) bylo dosaženo nejvyšších přírůstků u *P. ostreatus* a nejnižších u *P. eryngii*. S růstem teploty se zvyšovala u všech sledovaných kultur i rychlost růstu mycelia. Nejvyšších přírůstků BP bylo dosaženo při teplotě 30°C, ale dá se předpokládat, že optimální hodnota růstu pro BP je 27.5°C, což i dostatečně odpovídá popisu vynálezů.
- 2 Podobně se zvyšovaly přírůstky mycelia BP kultivovaného na slaměných peletách při teplotách 15°C, 20°C a 24°C se potvrdilo, že nejrychlejší kolonizaci dosáhlo mycelium BP při teplotě 24°C.
- 3 Při porovnávání výnosů 3 druhů hlív bylo dosaženo nejvyššího výnosu u *P. ostreatus* cv. Spoppo, zatímco výnos kultur *P. eryngii* a BP byly nižší. Plodnice BP se částečně tvořily v trsech a částečně jednotlivě a neměly standardní tvar.
- 4 V jednom z pokusů byl porovnáván výnos a poměr klobouků a třenů plodnic *P. eryngii* a BP. Výhodou křížence BP je, že má silný třen, který připomíná svojí hmotností a tvarem plodnice *P. eryngii*. V pokusech dosáhly třeně plodnice BP větší hmotnosti než třeně *P. eryngii*.

- 5 Kmen BP byl kultivován na 2 substrátech, a to slaměných peletách a slaměných peletách obohacených 20% sójových slupek. Na obohacených peletách bylo dosaženo průkazně vyššího výnosu než na neobohacené kontrole.
- 6 Vhodným naformováním bloků substrátu ve tvaru úzkých válců v plastových sáčcích se podařilo dosáhnout toho, že se plodnice BP tvořily pouze na povrchu substrátu, a ne na bocích bloků pod fólií a dosahovaly tvaru, jaký mají plodnice *P. eryngii*.
- 7 Při technologii spaření slaměných pelet vřelou vodou lze dosáhnout na sypkém substrátu bez jeho sterilizace takového výnosu a tvaru plodnice jako při pěstování *P. eryngii* na substrátu sterilizovaném.

8 Literatura

- Stastny, J., Marsik, P., Tauchen, J., Bozik, M., Mascellani, A., Havlik, J., Landa, P., Jablonsky, I., Treml, J., Herczogova, P., Bleha, R., Synytsya, A. & Kloucek, P., 2022. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Five Medicinal Mushrooms of the Genus *Pleurotus*. *Antioxidants*, 11(8), 1569. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox11081569>.
- El-Ramady, H., Abdalla, N., Fawzy, Z., Badgar, K., Llanaj, X., Törös, G., Hajdú, P., Eid, Y. & Prokisch, J., 2022. Green Biotechnology of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus* L.): A Sustainable Strategy for Myco-Remediation and Bio-Fermentation. *Sustainability*, 14(6), 3667. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/su14063667>.
- Lavelli, V., Proserpio, C., Gallotti, F., Laureati, M. & Pagliarini, E., 2018. Circular reuse of bio-resources: the role of *Pleurotus spp.* in the development of functional foods. *Review Article*. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C7FO01747B>.
- Corrêa, R.C.G., Brugnari, T., Bracht, A., Peralta, R.M., & Ferreira, I.C.F.R., 2016. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus spp.* (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. Dostupné z: <https://core.ac.uk/download/pdf/153414672.pdf>.
- Raman, J., Jang, K-Y., Oh, Y-L., Oh, M., Im, J-H., Lakshmanan, H., et al., 2020. Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus spp.*: An Overview. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1835142>.
- Encyclopedia of Life. (n.d.). *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., 1871. Dostupné z: <https://eol.org/pages/1028614/articles>.
- Galappaththi MCA, Dauner L, Madawala S, Karunarathna SC., 2021. Nutritional and medicinal benefits of Oyster (*Pleurotus*) mushrooms: a review. *Fungal Biotech*, 1(2), 65–87. Dostupné z: <https://doi.org/10.5943/FunBiotech/1/2/5>.
- Khinsar, K.H., Abdul, S., Hussain, A., Din, R.U., Lei, L., Cao, J., Abbasi, M., Rehman, A.U., Farooqui, N., Yi, X., Min, H., Wang, L., & Mintao, Z., 2021. Anti-tumor effect of polysaccharide from *Pleurotus ostreatus* on H22 mouse Hepatoma ascites in-vivo and hepatocellular carcinoma in-vitro model. *AMB Express*. Dostupné z: <https://springeropen.com>.
- Wang, W., Chen, K., Liu, Q., Johnston, N., Ma, Z., Zhang, F., & Zheng, X., 2014. Suppression of Tumor Growth by *Pleurotus ferulae* Ethanol Extract through Induction of

- Cell Apoptosis, and Inhibition of Cell Proliferation and Migration. *PLOS ONE*. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102673>.
- Figueiredo, L., & Régis, W.C.B., 2017. Medicinal mushrooms in adjuvant cancer therapies: an approach to anticancer effects and presumed mechanisms of action. *Nutrire*, 42:28. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s41110-017-0050-1>.
- Baisas, L., 2023. Oyster mushrooms release nerve gas to kill worms before eviscerating them. *Popular Science*. Dostupné z: <https://www.popsci.com/science/oyster-mushroom-nerve-gas/>.
- Chang, Y-C., Pon, W-L., Lee, S-P., Wali, N., Nakazawa, T., Honda, Y., Shie, J-J., & Hsueh, Y-P., 2023. A carnivorous mushroom paralyzes and kills nematodes via a volatile ketone. *Science Advances*, 9(3). Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/sciadv.ade4809>.
- Innes, C., 2023. Pleurotus spp. as Agents of Mycoremediation: A Review. Bachelor of Science (B.S.) in Biology and University Honors Thesis. Portland State University. Dostupné na: <https://doi.org/10.15760/honors.1387>.
- Dahmen, N., Lewandowski, I., Zibek, S., & Weidtmann, A., 2019. Integrated lignocellulosic value chains in a growing bioeconomy: Status quo and perspectives. *GCB Bioenergy*, 11, 107–117. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/gcbb.12586>.
- Bitew, D., & Mandefro, A., 2018. Substrate optimization for cultivation of *Pleurotus ostreatus* on lignocellulosic wastes (coffee, sawdust, and sugarcane bagasse) in Mizan–Tepi University, Tepi Campus, Tepi Town. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 6(04), 14-20. Dostupné z: <https://doi.org/10.7324/JABB.2018.60403>.
- Petre, M. et al., 2003. *Biotechnology of Mushroom Growth Through Submerged Cultivation*. ISBN: 978-0-12-802794-3.
- Ishikawa, M., Inatomi, S., Ouchi, K., & Oku, T., 2012. Novel species of *Pleurotus* sp. and method for producing same. Canadian Patent No. CA2878902C. Dostupné z: <https://patents.google.com/patent/CA2878902C/en>.
- Gregori, A., Švagelj, M., & Pohleven, J., 2007. Cultivation Techniques and Medicinal Properties of *Pleurotus* spp. *Food Technology and Biotechnology*, 45(3), 238–249.
- Jablonský, I., Šašek, V., Koudela, M., Novodní, D., 2019. *Jedlé a léčivé houby a jak pěstovat*. 1. vyd. Praha: Profi Press. ISBN: 978-80-88306-03-0.
- Holec, J., Bielich, A. a Beran, M., 2012. *Přehled hub střední Evropy*. 1. vyd. Praha: Academia. ISBN: 978-80-200-2077-2.
- Peña, A., Babiker, R., Chaduli, D., Lipzen, A., Wang, M., Chovatia, M., Rencoret, J., Marques, G., Sánchez-Ruiz, M.I., Kijpornyongpan, T., et al., 2021. A Multiomic Approach

- to Understand How *Pleurotus eryngii* Transforms Non-Woody Lignocellulosic Material. *J. Fungi*, 7, 426. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jof7060426>.
- Dai, Y., Sun, L., Yin, X., Gao, M., Zhao, Y., Jia, P., Yuan, X., Fu, Y., & Li, Y., 2019. *Pleurotus eryngii* Genomes Reveal Evolution and Adaptation to the Gobi Desert Environment. *Frontiers in Microbiology*, 10. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02024>.
- Carrasco, J., Zied, D.C., Pardo, J.E., Preston, G.M. a Pardo-Giménez, A., 2018. Supplementation in mushroom crops and its impact on yield and quality. *AMB Express*, 8(1), s.146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0678-0>.
- Melanouri, E.-M., Dedousi, M. a Diamantopoulou, P., 2022. Cultivating *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* mushroom strains on agro-industrial residues in solid-state fermentation. Part I: Screening for growth, endoglucanase, laccase and biomass production in the colonization phase. *Carbon Resources Conversion*, 5, str. 61–70. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.crcon.2021.12.004>.
- Sánchez Vázquez, J.E. a Royse, D.J., 2001. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. El Colegio de la Frontera Sur.
- Cheung, P.C.K., 2008. *Mushrooms as Functional Foods*. John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 978-0-470-05406-2.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

- BP Black pearl, Černá perla
 PE *Pleurotus eryngii*, Hlíva máčková
 PO *Pleurotus ostreatus*, Hlíva ústříčná
 cv cultivar
 rv Relativní vlhkost
 spp *species pluralis*
 PE Polyethylen
 PP Polypropylen
 HDP High-Density Polyethylene
 SDH Vypložený substrát (Substrát degradován houbami)

10 Samostatné přílohy

1. Pokus

Test růstu mycelia 3 druhů hlív ve 4 různých teplotách

Proměnná	Popisné statistiky (PE pokus 1 růst na agaru teploty 15-20-25-30 C)	
	Průměr denního růstu v mm	Sm.odch.
Denní růst mycelia PE v mm při 15°C	1,94	0,570716
Denní růst mycelia PE v mm při 20°C	2,73	0,589256
Denní růst mycelia PE v mm při 25°C	3,97	0,877269
Denní růst mycelia v PE mm při 30°C	4,54	1,458506

Příloha č. 1 k Grafu č.1.1: Průměrného denního růstu mycelia hlívy máčkové v mm při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C

Proměnná	Popisné statistiky (BP pokus 1 růst na agaru teploty 15-20-25-30 C)	
	Průměr denního růstu v mm	Sm.odch.
Denní růst mycelia BP v mm při 15°C	2,44	0,822783
Denní růst mycelia BP v mm při 20°C	3,85	1,365046
Denní růst mycelia BP v mm při 25°C	5,68	0,796427
Denní růst mycelia BP v mm při 30°C	5,43	0,984592

Příloha č. 1 k Grafu č.1.2: Průměrného denního růstu mycelia BP v mm při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C

Proměnná	Popisné statistiky (PO pokus 1 růst na agaru teploty 15-20-25-30 C)	
	Průměr denního růstu v mm	Sm.odch.
Denní růst mycelia PO v mm při 15°C	2,66	0,705759
Denní růst mycelia PO v mm při 20°C	4,27	1,038463
Denní růst mycelia PO v mm při 25°C	6,42	1,019523
Denní růst mycelia PO v mm při 30°C	6,53	1,135480

Příloha č. 1 k Grafu č.1.3: Průměrného denního růstu mycelia hlívy ústříčné v mm při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C

Houba	Teplota	Opakování	21.5. (1. měření)				24.5. (2. měření)			
			kvadrant				kvadrant			
			I	II	III	IV	I	II	III	IV
Pleurotus eryngii	15°C	1	8	4	7	8	5	6	5	6
Pleurotus eryngii	15°C	2	7	6	7	8	4	4	8	5
Pleurotus eryngii	15°C	3	6	6	9	8	5	4	5	2
Pleurotus eryngii	15°C	4	4	7	8	5	6	3	4	6
Pleurotus eryngii	20°C	1	6	7	7	8	9	9	10	8
Pleurotus eryngii	20°C	2	8	5	9	9	5	9	7	11
Pleurotus eryngii	20°C	3	9	6	6	9	8	10	9	10
Pleurotus eryngii	20°C	4	6	7	5	9	11	10	10	10
Pleurotus eryngii	25°C	1	12	9	9	9	13	13	12	13
Pleurotus eryngii	25°C	2	6	13	12	9	14	9	13	14
Pleurotus eryngii	25°C	3	13	12	10	13	17	16	16	17
Pleurotus eryngii	25°C	4	20	6	9	13	8	10	10	8
Pleurotus eryngii	30°C	1	11	9	7	11	17	17	18	17
Pleurotus eryngii	30°C	2	12	14	10	11	18	17	17	19
Pleurotus eryngii	30°C	3	11	6	6	11	18	18	17	19
Pleurotus eryngii	30°C	4	14	9	6	13	17	18	16	16

Příloha č. 2 k Grafu č.1.1: Průměrného denního růstu mycelia hlívy máčkové v mm při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C

			21.5. (1. měření)				24.5. (2. měření)			
			kvadrant				kvadrant			
Houba	Teplota	Opakování	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Black pearl	15°C	1	11	8	7	9	5	5	11	6
Black pearl	15°C	2	10	7	7	9	4	7	4	4
Black pearl	15°C	3	9	6	9	9	4	4	3	12
Black pearl	15°C	4	10	9	10	10	6	6	6	7
Black pearl	20°C	1	12	11	7	7	15	15	10	15
Black pearl	20°C	2	9	6	8	9	11	18	18	15
Black pearl	20°C	3	8	12	7	6	12	10	13	13
Black pearl	20°C	4	10	5	6	13	17	18	19	15
Black pearl	25°C	1	18	14	17	14	18	17	15	16
Black pearl	25°C	2	14	14	16	12	16	18	19	18
Black pearl	25°C	3	19	18	14	18	21	22	22	20
Black pearl	25°C	4	15	15	17	18	17	18	18	17
Black pearl	30°C	1	14	15	14	14	15	15	15	15
Black pearl	30°C	2	14	17	20	16	22	20	20	20
Black pearl	30°C	3	21	14	12	15	16	20	20	17
Black pearl	30°C	4	14	10	14	12	17	17	19	17

Příloha č. 2 k Grafu č.1.2: Průměrného denního růstu mycelia BP v mm při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C

			21.5. (1. měření)				24.5. (2. měření)			
			kvadrant				kvadrant			
Houba	Teplota	Opakování	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Spoppo	15°C	1	13	6	6	7	4	7	8	9
Spoppo	15°C	2	8	6	6	7	5	7	7	9
Spoppo	15°C	3	8	12	9	8	10	5	9	11
Spoppo	15°C	4	6	10	10	9	7	10	10	6
Spoppo	20°C	1	13	8	12	10	15	17	11	14
Spoppo	20°C	2	12	8	15	7	15	17	16	15
Spoppo	20°C	3	15	9	10	10	14	15	15	19
Spoppo	20°C	4	14	9	9	9	14	16	14	13
Spoppo	25°C	1	22	15	16	25	15	21	21	17
Spoppo	25°C	2	20	25	20	20	19	23	21	20
Spoppo	25°C	3	17	18	16	18	19	19	20	20
Spoppo	25°C	4	19	13	14	26	18	20	21	18
Spoppo	30°C	1	20	12	16	17	20	25	24	21
Spoppo	30°C	2	16	15	17	17	22	25	23	22
Spoppo	30°C	3	16	21	17	17	22	22	22	23
Spoppo	30°C	4	22	12	18	20	20	22	21	20

Příloha č. 2 k Grafu č.1.3: Průměrného denního růstu mycelia hlívy ústříčné v mm při sledovaných teplotách 15°C, 20°C, 25°C a 30°C

2. Pokus

Růst mycelia BP ve 3 teplotách na peletách z pšeničné slámy

Popisné statistiky (BP pokus 10-04-2024 1 růst na peletách teploty 15-20-25-30 C)		
Proměnná	Průměr	Sm.odch.
15°C	38	2,823512
20°C	68	5,187458
24°C	95	7,454957

Příloha č. 1 k Grafu č.2.1: Růst mycelia kmene BP na peletách z pšeničné slámy při teplotách 15°C, 20°C, 24°C za 32 dnů

Měření přírůstků mycelia BP na peletách za 32 dnů		
15°C	20°C	24°C
40	60	105
40	65	90
35	80	85
37	70	88
40	65	85
35	60	90
35	70	100
37	70	110
40	70	98
45	65	95
37	70	98
37	70	95
38	68	95

Příloha č. 2 k Grafu č.2.1: Růst mycelia kmene BP na peletách z pšeničné slámy při teplotách 15°C, 20°C, 24°C za 32 dnů

3. Pokus

Porovnání tvorby plodnic hlívy ústříčné, hlívy máčkové, BP a jejich křížence hlívy BP.

Proměnná	Popisné statistiky (3 .pokus výnos PE BP a PO)		
	N platných	Průměr	Sm.odch.
PE Klobouk v g	7	175,97	80,16
PE Třeň v g	7	108,10	49,88
PE Celkem v g	7	284,07	102,96

Příloha č. 1 k Grafu č.3.1: Porovnání průměrné hmotnosti klobouku, třeně a celkový výnos hlívy máčkové.

Proměnná	Popisné statistiky (3 .pokus výnos PE BP a PO)		
	N platných	Průměr	Sm.odch.
BP Klobouk v g	8	133,11	88,52
BP Třeň v g	8	187,97	120,92
BP Celkem v g	8	262,13	209,07

Příloha č. 1 k Grafu č.3.2: Porovnání průměrné hmotnosti klobouku, třeně a celkový výnos hlívy BP

Proměnná	Popisné statistiky (3 .pokus výnos PE BP a PO)		
	N platných	Průměr	Sm.odch.
PO Celkem v g	6	450,74	97,36

Příloha č. 1 k Grafu č.3.3: Porovnání průměrné hmotnosti celkového výnosu hlívy máčkové, hlívy ústříčné a hlívy BP.

Proměnná	Popisné statistiky (3 .pokus výnos PE BP a PO)		
	N platných	Průměr	Sm.odch.
Průměrný výnos PE v g	7	284,07	102,96
Průměrný výnos BP v g	8	262,13	209,07
Průměrný výnos PO v g	6	450,74	97,36

Příloha č. 2 k Grafu č.3.3: Porovnání průměrné hmotnosti celkového výnosu hlívy máčkové, hlívy ústříčné a hlívy BP.

Podíl hmotnosti klobouku a třeně a výnos hlívy máčkové:

C:\Users\Asus\Desktop\Diplomova prace\3.pokus výnos PE BP a PO.xlsx : Podíl hmot. klobouku a třeně PE			
	PE Klobouk v g	PE Třeň v g	PE Celkem v g
1	52,17	154,43	206,6
2	307,12	195,2	502,32
3	149,63	98,59	248,22
4	168,72	99,4	268,12
5	154,43	52,17	206,6
6	157	87	244
7	242,72	69,94	312,66

Příloha č.2 k Grafu č.3.1: Porovnání průměrné hmotnosti klobouku, třeně a celkový výnos hlívy máčkové.

Podíl hmotnosti klobouku a třeně a výnos kmene BP:

C:\Users\Asus\Desktop\Diplomova prace\3.pokus výnos PE BP a PO.xlsx : Podíl hmot. klobouku a třeně BP			
	BP Klobouk v g	BP Třeň v g	BP Celkem v g
1	134	304,02	438,02
2	205,87	169,45	375,32
3	41,22	109,3	75,26
4	39,12	75,4	114,52
5	158	234,07	196,035
6	35,67	11,21	46,88
7	175,02	225,57	200,295
8	275,95	374,77	650,72

Příloha č. 2 k Grafu č.3.2: Porovnání průměrné hmotnosti klobouku, třeně a celkový výnos hlívy BP

Výnos plodnic hlívy ústřičné:

C:\Users\Asus\Desktop\Diplomova prace\3.pokus výnos PE BP a PO.xlsx : Vynost plodnice PO	
	PO Celkem v g
1	600,38
2	519,94
3	398,2
4	325
5	410,2
6	450,744

Příloha č. 2 k Grafu č.3.3: Porovnání průměrné hmotnosti celkového výnosu hlívy máčkové, hlívy ústřičné a hlívy BP.

Porovnání výnosu PE, BP a PO:

C:\Users\Asus\Desktop\Diplomova prace\3.pokus výnos PE BP a PO.xlsx : Průměrný výnos kmene PE, BP, PO			
	Průměrný výnos PE v g	Průměrný výnos BP v g	PO Celkem v g
1	206,6	438,02	600,38
2	502,32	375,32	519,94
3	248,22	75,26	398,2
4	268,12	114,52	325
5	206,6	196,035	410,2
6	244	46,88	450,74
7	312,66	200,295	
8		650,72	

Příloha č. 3 k Grafu č.3.3: Porovnání průměrné hmotnosti celkového výnosu hlívy máčkové, hlívy ústřičné a hlívy BP.

Porovnání průměrné hmotnosti klobouků:

Proměnná	Popisné statistiky (3 .pokus výnos PE BP a PO)		
	N platných	Průměr	Sm.odch.
BP hmotnost klobouk v g	8	133,11	88,52
PE hmotnost klobouk v g	7	175,97	80,16

Příloha č. 1 k Grafu č.3.4: Porovnání průměrné hmotnosti klobouku u hlívy máčkové a hlívy BP.

Porovnání průměrné hmotnosti třeňů:

Proměnná	Popisné statistiky (3 .pokus hmotnost třeň PE BP)		
	N platných	Průměr	Sm.odch.
PE hmotnost Třeň v g	7	108,10	49,88
BP hmotnost Třeň v g	8	187,97	120,92

Příloha č. 1 k Grafu č.3.5: Porovnání průměrné hmotnosti třeň u hlívy máčkové a hlívy BP.

4. Pokus

Porovnání tvorby plodnic BP na pšeničných peletách obohacených a neobohacených sojovými slupkami

Proměnná	Popisné statistiky (4. A pokus - výnosy soja)		
	N platných	Průměr	Sm.odch.
Se sojou 1. vlna	10	220,1900	82,8782
Se sojou 2.vlna	5	169,2600	39,5277
Se sojou celkem	10	304,8200	93,6723
Kontrola 1. vlna	7	241,7000	95,3227
Kontrola 2.vlna	2	63,0000	27,7186
Kontrola celkem	10	181,7900	139,9491

Příloha č. 1 k Grafu č.4.1: Porovnání průměrného výnosu plodnic hlívy BP na pšeničných peletách obohaceného sojových slupek.

Porovnání tvorby plodnic BP na pšeničných peletách obohacených a neobohacených sojovými slupkami:

C:\Users\Asus\Desktop\Diplomova prace\4. A pokus - výnosy soja.xlsx : BP sojou obohacení pelety							
	číslo	S 1. vlna	S 2.vlna	Sojou celkem	K 1. vlna	K 2.vlna	Kontrola celkem
1	1	363,5		363,5	390		390
2	2	129,6	149,5	279,1			0
3	3	228	169	397	281,8		281,8
4	4	307		307	97,8	43,4	141,2
5	5	152		152	249		249
6	6	275,8		275,8			0
7	7	253	122	375	221,3		221,3
8	8	231,6	176,8	408,4	294		294
9	9	114,7	229	343,7			0
10	10	146,7		146,7	158	82,6	240,6

Příloha č. 2 k Grafu č.4.1: Porovnání průměrného výnosu plodnic hlívy BP na pšeničných peletách obohaceného sojových slupek.

5. Pokus

Porovnání tvorby plodnic BP při různých způsobech šokování

Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na průměrnou hmotnost plodnic BP a jejich částí

Ranost variant vyjádřená termíny první sklizně jednotlivých bloků		
	Četnost Pelety	Četnost Zemina
05.02.	3	4
07.02.	4	4
12.02.	1	4
01.03.	0	0
05.03.	0	1

Příloha č. 1 k Grafu č.5.1: Ranost při různých způsobech šokování vyjádřená termíny první sklizně jednotlivých bloků

C:\Users\Asus\Desktop\Diplomova prace\5. pokus velikost plodnic P-Z.xlsx : Velikost plodnic zemina a pelety										
	Datum-pelety	Parcela-pelety	Datum-zemina	Parcela-zemina	Klobouk-pelety	Klobouk-zemina	Třeň-pelety	Třeň-zemina	Celkem-pelety	Celkem-zemina
1	5.2.	S 1	7.2.	Z 1	17,60	70,18	84,70	76,25	102,30	146,43
2	7.2.	S 3	12.2.	Z 2	38,71	48,11	86,79	119,40	125,50	167,51
3	7.2.	S 4	5.2.	Z 3	58,33	31,69	99,41	64,39	157,74	96,08
4	5.2.	S 5	5.3.	Z 4	41,34	27,93	125,00	69,93	166,34	97,86
5	5.2.	S 6	12.2.	Z 5	19,82	58,27	100,65	75,93	120,47	134,20
6	7.2.	S 7	5.2.	Z 6	31,90	16,59	101,76	63,73	133,66	80,32
7	12.2.	S 8	12.2.	Z 7	96,70	23,60	81,70	85,83	178,40	109,43
8	7.2.	S 12	7.2.	Z 8	42,77	10,54	70,16	95,41	112,93	105,95
9			7.2.	Z 9		12,57		79,71		92,28
10			5.2.	Z 10		77,89		102,73		180,62
11			5.2.	Z 11		22,92		106,76		129,68
12			7.2.	Z 12		23,21		113,60		136,81
13			12.2.	Z 13		35,90		137,25		173,15

Příloha č. 1 k Grafu č.5.2: Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na průměrnou hmotnost plodnic BP a jejich částí vyjádřenou v g

Proměnná	Popisné statistiky (5. pokus velikost plodnic P-Z)		
	N platných	Průměr	Sm.odch.
Klobouk-pelety	8	43,40	25,20
Klobouk-zemina	13	35,34	21,81
Třeň-pelety	8	93,77	16,70
Třeň-zemina	13	91,61	23,01
Celkem-pelety	8	137,17	27,27
Celkem-zemina	13	126,95	33,07

Příloha č. 2 k Grafu č.5.2: Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na průměrnou hmotnost plodnic BP a jejich částí vyjádřenou v g

Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na výnos vyjádřený v biologické efektivitě v %

C:\Users\Asus\Desktop\Diplomova prace\5. pokus velikost plodnic P-Z.xlsx : Biologická efektivita zem a pel				
	Parcela pelety	Parcela zemina	BE % pelety	BE % zemina
1	S 1	Z 1	35,805	51,25
2	S 3	Z 2	43,925	58,63
3	S 4	Z 3	55,209	33,63
4	S 5	Z 4	58,219	34,25
5	S 6	Z 5	42,1645	46,97
6	S 7	Z 6	46,781	28,11
7	S 8	Z 7	62,44	38,30
8	S 12	Z 8	39,5255	37,08
9		Z 9		32,30
10		Z 10		63,22
11		Z 11		45,39
12		Z 12		47,88
13		Z 13		60,60

Příloha č. 1 k Grafu č.5.3: Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na výnos vyjádřený v biologické efektivitě

Proměnná	Popisné statistiky (5. pokus velikost plodnic vyjádřený v biologické efektivitě BE v %)		
	N platných	Průměr	Sm.odch.
BE % pelety	8,00	48,01	9,54
BE % zemina	13,00	44,43	11,57

Příloha č. 2 k Grafu č.5.3: Porovnání vlivu ošetření povrchu substrátu na výnos vyjádřený v biologické efektivitě