

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zahradnictví



**Vztah hlívy ústřičné (*Pleurotus ostreatus*) a klanolístky
obecné (*Schizophyllum commune*) během kolonizace
jabloňové a slivoňové štěpky**

Bakalářská práce

Autor práce: Daniel Adamčík

Vedoucí práce: Ing. Ivan Jablonský Csc.

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vztah hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) a klanolístky obecné (*Schizophyllum commune*) během kolonizace jabloňové a slivoňové štěpky" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____.

Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat mému vedoucímu bakalářské práce panu Ing. Ivanu Jablonskému CSc. za pomoc při přípravě pokusů, poskytnutí literatury, ochotu poradit a hlavně za trpělivost s mou osobou. Dále děkuji za pomoc při zpracování statistických výsledků Dr. Martinu Koudelovi.

Vztah hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) a klanolístky obecné (*Schizophyllum commune*) při růstu na jabloňové a slivoňové štěpce

Souhrn

Tato bakalářská práce se zabývá prorůstáním mycelii dvou dřevokazných hub, kterými jsou klanolístka obecná (*Schizophyllum commune*) a hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*) substrátem z jabloňové a slivoňové štěpky získané z ořezaných větví těchto ovocných stromů, který byl ošetřen tepelně, chemicky a fermentací. Pokusy měly také založenou kontrolní variantu, která byla ošetřena horkou vodou, popřípadě byla štěpka namočená ve vodě. Ve dvou pokusech bylo pracováno se štěpkou, která již byla kolonizována hlívou ústříčnou (vyplozeným substrátem). Bylo založeno celkem pět pokusů, které měly zjistit rychlost růstu jednotlivých hub na různých substrátech a míru kontaminace, dále byla pozorována schopnost hub tvořit zárodky plodnic (primordia). V posledním pokusu byly houby pěstovány v polypropylenových rukávcích, kdy byly naočkovány proti sobě, pozornost byla věnována místu, kde se obě mycelia potkaly. Výsledky těchto pokusů byly statisticky vyhodnoceny. Tyto pokusy prokázaly vhodnost sterilizace a fermentace substrátů pro pěstování těchto hub a dále možnost využití vyplozené štěpky hlívou ústříčnou (*Pleurotus ostreatus*) pro kultivaci klanolístky obecné (*Schizophyllum commune*).

Klíčová slova: *Schizophyllum commune*, *Pleurotus ostreatus*, štěpka ovocných stromů, růst mycelia

Relationship of *Pleurotus ostreatus* and *Schizophyllum commune* during colonisation of substrates - apple and plum chips

Summary:

This bachelorthesis is concerned with growing the mycelia of two wood-destroying fungus, which are *Schizophyllum commune* and *Pleurotus ostreatus* substrate of apple and plum chips obtained from these cut branches of fruit trees that has been treated thermally, chemically and by fermentation. Moreover my attempts were based on control variant, which has been treated by hot water alternatively the chips were dipped in the water. During these two experiments I were working with chips that have already been colonized by oyster mushroom (exploited substrate). I founded five experiments in total to detect growing speed of particular fungus in various substrates and degree of contamination. I observed the ability of fungus to form primordia aswell as. In the last attempt, the fungus were growing in polypropylene sleeves and they were grafted to each other. I have paid attention to the place where the both mycelial met. The results of experiments were statistically evaluated. These experiments demonstrated the suitability of sterilization and fermentation substrates for growing mushrooms and also the possibility of using wood chips exploited by *Pleurotus ostreatus* for the cultivation of *Schizophyllum commune*.

Keywords: *Schizophyllum commune*, *Pleurotus ostreatus*, fruit tree chips, mycelial growth

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíl práce a hypotéza.....	2
2.1 Cíl práce.....	2
2.2 Hypotéza.....	2
3 Literární rešerše.....	3
3.1 Klanolístka obecná - <i>Schizophyllum commune</i>	3
3.1.1 Používané názvy.....	3
3.1.2 Taxonomické zařazení.....	3
3.1.3 Popis, výskyt.....	4
3.1.4 Fyziologické požadavky.....	6
3.1.5 Rozmnožování, životní cyklus.....	8
3.1.6 Buněčná stěna.....	11
3.1.7 Vztah s ostatními houbami.....	12
3.1.8 Klanolístka obecná jako parazit na ovocných dřevinách.....	13
3.1.9 Využití, léčivé účinky.....	14
3.2 Řecký a latinský původ pojmenování.....	17
3.2.1 Taxonomické zařazení.....	17
3.2.2 Popis, výskyt.....	17
3.2.3 Fyziologické požadavky.....	18
3.2.4 Pěstování, životní cyklus hlívy.....	20
3.2.5 Léčivé účinky.....	21
3.3 Dřevní štěpka.....	22
3.3.1 Charakteristika.....	22
Zelená štěpka (lesní).....	22
Hnědá štěpka.....	22
Bílá štěpka.....	22
3.3.2 Využití.....	22
3.3.3 Štěpkovače.....	23
4. Metodika.....	24
4.1 Rozložení pokusů.....	24
4.1 Vliv ošetření jabloňové a slivoňové štěpky na růst klanolístky a hlívy.....	24
4.2 Porovnání růstu mycelia <i>Schizophyllum commune</i> a <i>Pleurotus ostreatus</i> na sterilizované a namočené jabloňové a slivoňové štěpce.....	24
4.3 Porovnání růstu mycelia <i>S. commune</i> na štěpce slivoní podrobené fermentaci.....	25
4.4 Porovnání růstu mycelia <i>Schizophyllum commune</i> a <i>Pleurotus ostreatus</i> na slivoňové štěpce s růstem na vyplozeném substrátu.....	25

4.5 Interakce mezi myceliem hlívy ústřičné a klanolístky obecné	25
4.2 Materiál	26
4.3 Postup založení pokusů	26
4.3.1 Pokus č. 1	26
4.3.2 Pokus č. 2	27
4.3.3 Pokus č. 3	27
4.3.4 Pokus č. 4	27
4.3.5 Pokus č. 5	27
5. Výsledky	28
5.1. Statistické vyhodnocení pokusů	28
5.1.1 Statistické vyhodnocení pokusu č.1	28
5.1.2 Statistické vyhodnocení pokusu č.2	30
5.1.4 Statistické vyhodnocení pokusu č.4	34
5.2. Měření plochy zárodků plodnic klanolístky obecné	35
5.3 Vzájemný vztah mycelií	35
5.3.1 Pokus č.5	35
6 Diskuse	36
7 Závěr	38
8 Seznam použité literatury	39
9. Seznam příloh	43

1 Úvod

Houby jsou eukaryotické heterotrofní organismy, které se rozmnožují výtrusy. Jejich tělo je složeno z vláken, která jsou rozvětvená a propletená a tvoří tak podhoubí (mycelium).

Dřevokazné houby tvoří skupinu hub, jejichž substrátem je dřevní hmota. Tyto houby enzymaticky rozkládají odumřelé kmeny, pařezy, větve a větvičky a podílejí se tak na jejich dekompozici a humifikaci. Tím je umožněn koloběh minerálů a živin v přírodě.

U mnoha zástupců těchto dřevokazných hub, mezi které patří i hlíva ústříčná a klanolístka obecná byly prokázány léčivé vlastnosti. Hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*) byla pro tyto účinky známá a využívána již v dávných dobách, hlavně v zemích dálného východu. Je ji možné sbírat hlavně na podzim v lesích nebo se dá pěstovat celoročně v domácích podmínkách, na trhu je k dostání jako čerstvá nebo v různých doplňcích stravy.

O léčivých vlastnostech klanolístky obecné (*Schizophyllum commune*) není mnoho informací, protože byly prokázány teprve v nedávné době i přes to, že je v zemích dálného východu a také pravděpodobně na celé zemi v oblastech výskytu využívána několik tisíciletí a považována za lék na dlouhověkost. Hlavní látkou s léčivými vlastnotmi je glukan schizophyllan, který je v dnešní době intenzivněji zkoumán a je také již používán v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu.

2 Cíl práce a hypotéza

2.1 Cíl práce

Zhodnotit schopnosti růstu a kolonizace štěpky z jabloňových větví a štěpky ze slivoňových větví houbou klanolístka obecná. Sledovat vztah mycelia klanolístky a hlívy na společně sdíleném substrátu. Posoudit následný růst klanolístky na substrátu z štěpky osídlené myceliem hlívy.

2.2 Hypotéza

Zjištěním vhodného ošetření substrátů a pozorováním růstu mycelií klanolístky obecné a hlívy ústříčné na těchto substrátech bude splněn cíl práce.

3 Literární rešerše

3.1 Klanolístka obecná - *Schizophyllum commune*

3.1.1 Používané názvy

Split-fold (anglicky)

Gemeiner Spaltblättling (německy)

suehirotake (スエヒロタケ) (japonsky)

(aloha medicinals)

3.1.2 Taxonomické zařazení

Říše: *Fungi* (Houby)

Oddělení: *Basidiomycota* (Houby stopkovýtrusné)

Podkmen: *Agaricomycotina*

Třída: *Basidiomycetes* (Stopkovýtrusné)

Podtřída: *Agaricomycetidae* (Houby rouškaté)

Řád: *Agaricales* (Pečárkotvaré)

Čeleď: *Schizophyllaceae* (Klanolístkovité)

Rod: *Schizophyllum* (Klanolístka)

(Kalina a Váňa, 2005)

3.1.3 Popis, výskyt

Plodnice jsou velké 10-40mm, složené, krepované, s dělenými lamelami, kotoučovitě nebo vějířovitě až škeblovitě. Nasazené plodnice mohou v průběhu vývoje úplně vyschnout a po dešťových srážkách opět regenerují a dále se vyvíjejí. Klobouk je zasucha bělavý až našedlý, za vlhčích podmínek tmavší až šedohnědý, pýřitý nebo chlupatý. Plodnice bokem nebo svrchní stranou přirůstají k substrátu. Hymenium je světle hnědé, trochu voskové. Třeň je zakrnělý nebo chybí. Vůně a chuť jsou nezřetelné (Knudsen, H. & Vesterholt; 2008).

Plodnice klanolístky obecné jsou jednoleté a rostou od jara do zimy velmi hojně na kmenech a větvích jak živých, tak zejména mrtvých listnáčů (vzácně i jehličnanů), a to hlavně na břízách (*Betula*), bucích (*Fagus*), habrech (*Carpinus*), dubech (*Quercus*), jasaněch (*Fraxinus*), javorech (*Acer*), jeřábech (*Sorbus*), lípách (*Tilia*), vrbách (*Salix*) a z jehličnanů někdy na borovicích (*Pinus*) a smrcích (*Picea*). Z ovocných stromů napadá tato houba nejčastěji jabloně (*Malus*) a ořešáky (*Juglans*), méně často peckoviny, jako švestky (*Prunus domestica*), meruňky (*Armeniaca vulgaris*) a třešně (*Cerasium avium*). Tento druh je rozšířen od nížin až vysoko do hor (Balabán, 1970).

Mycelium klanolístky obecné rozkládá pouze dřevo bělové (hlavně zapařené), které rozrušuje bílou vláknitou hnilobou. V pokročilém stupni hniloby se dřevo plst'ovitě rozpadá. Hniloba je dosti intenzivní, avšak jen na povrchu, a šíří se především v odumřelém nebo odumírajícím pletivu. Infekce proniká do stromu především mrazovými trhlinami, místy po slunečním úpalu, odřeninami i ranami po uříznutých nebo ulomených větvích. Houba je velmi otužilá proti mrazu i vysokým teplotám a jiným nepříznivým vlivům počasí (Balabán, 1970).

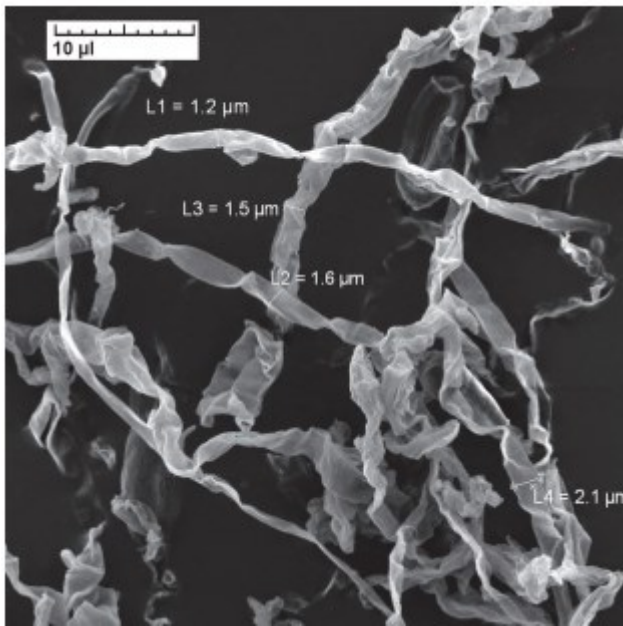
Basidie mají úzce kyjovitý tvar se 4 sporami. Spory velikosti 4-6x 1.5-2,5 mikrometrů jsou bílé až světle růžové elipsovité, hladké, tenkostěnné, nereagují na jód (Hobbs a Christopher, 2005).

Mycelium *Schizophyllum commune* roste prodlužováním vrcholů hyf. Monokaryotické i dikaryotické mycelium jsou schopny neurčitého vegetativního růstu ve vhodných podmínkách prostředí (Wessels, 1986). Hyfy se pravidelně větví a vytváří tak podhoubí, které kolonizuje mrtvé nebo živé substráty. Když mycelium získá určitou hmotnost, začnou se tvořit vzdušné hyfy, nebo se hyfy zapojí do diferenciací reprodukčních struktur, které napomáhají při šíření nepohlavních nebo pohlavních výtrusů. Nejznámější z těchto vzdušných struktur jsou plodnice. Obvykle se tyto plodnice vytvářejí z heterokaryotických hyf tvořených spojením dvou homokaryotických mycelií. Ve specializovaných buňkách (basidiích), které jsou v

plodnicích, dvě haploidní jádra heterokaryonu tvoří diploidní jádro, které okamžitě podstoupí miózu a vytváří čtyři haploidní basidiospory (Raper, 1988).

Klanolístka vzbuzovala zájem lidí již v dávných dobách, o čemž svědčí fakt, že primitivní lidé v různých oblastech pojmenovávali *S. commune* podle zvláštních podobných jmen a dokonce ji používali jako potraviny nebo jako druh "žvýkačky" (Cooke, 1961).

Klanolístka obecná byla proslulá v zemích dálného východu jako lék na dlouhověkost (Hobbs a Christopher, 2005).



Obr. 1 Mycelium *S.commune* (elektronový mikroskop, 5000x zvětšení)

3.1.4 Fyziologické požadavky

Na růst mycelia a vývoj plodnic mají nezanedbatelný vliv podmínky vnějšího prostředí jako je světlo, živiny, atmosferické podmínky, vlhkost, teplota a toxické látky (Raper a John R., 1958).

3.1.4.1 Substrát

Dřevo je chudý zdroj dusíku. Růst *Schizophyllum commune*, ve výsledcích z miskové kultury s omezeným dusíkem vedl k výrazně nižší koncentraci biomasy, ale radiální růst se udržoval ve výši, která se rovná kulturám pěstovaných v médiích s dostatkem dusíku (Sessoms a Lilly, 1986). Tento trvalý radiální růst je podporován autolýzou staršího mycelia a následnou translokací molekul obsahujících dusík do vrchoů hyf (Lilly, Wallweber a Higgins, 1991). Proteiny mycelia po hydrolyze poskytují bohatý zdroj dusíku pro recyklaci.

Pěstební média v laboratorních podmínkách

V laboratorních podmínkách byla v minulosti zkoumána houba *Schizophyllum commune* zejména v genetických pokusech. V dnešní době se zkoumá pro její možné využití v mnohých aplikacích v lékařství a průmyslu. Zde je několik příkladů složení nejčasteji používaných médií pro kultivaci v Petriho miskách.

Bramboro-dextrozový agar- PDY

Složení	dávka
voda	500ml
agar	10g
nakrájené a uvařené brambory	15g
nebo bramborový škrob	nebo 10g
dextroza	7g
kvasnice	1g

Sladový-kvasincový extrakt- MYA

složení	dávka
voda	500ml
agar	10ml
slad	10ml
kvasnice	1ml

Sladový extrakt s peptonem-MEP

složení	dávka
voda	500ml
agar	10ml
slad	10ml
pepton	1g

(zdroj: Aloha medicinals)

3.1.4.2 CO₂

Vysoká koncentrace CO₂ (5%) v ovzduší vážně omezovala proces fruktifikace při aplikaci během páření nebo před vznikem zárodku plodnice. Bylo zjištěno, že CO₂ hraje důležitou roli v regulaci tvaru plodnic *S.commune* (Niederpruem, 1963).

3.1.4.3 Vliv osvětlení na tvorbu plodnic

Fruktifikace je obvykle vlastnost dikaryotického mycelia, které u heterohalických druhů je tvořeno z interakce kompatibilních homokaryotických kmenů, tím ale nejsou na dikaryotické fázi závislé (Banerjee a kol., 2007).

Vývoj plodnic vyšších hub je jednou z fotomorfogenetických odpovědí na modré světlo (Niederpruem, 1963).

Světlo může významně ovlivnit růst hub, morfologii, diferenciaci, a rozptýlení spor. Perkins a Gordon (1969) studovali fotoindukci fruktifikace definovanými vlnovými délkami a zjistili, že světlo vlnových délek od 320 nm do 525 nm vyvolává fruktifikaci.

Marjatta Raudaskoski (1985) v pokusech prokázala, že plodnice se nevytvářely v dikariotických koloniích udržovaných nepřetržitě ve tmě. Světelný puls alespoň 60 minut je potřebný k indukci diferenciaci u 3,4, a 5 dnů starých kolonií rostoucích ve tmě. Plodnice se vyvíjely na okrajích kolonií, které byly v té době osvětleny. Žádná diferenciaci v odpovědi na světlo nebyla pozorována mezi koloniemi různého stáří, ale jasný rozdíl diferenciaci v modelu růstu byl zřejmý mezi koloniemi vystavenými krátkému světelnému pulsu a pak pěstovanými ve tmě a těmi, které byly vystaveny nepřetržitě světlu. Po osvětlení jen na 60 minut se vyvinulo několik plodnic a vegetativní růst kolonie pokračoval, i když se sníženou intenzitou na místech kde se diferencovaly plodnice. Na nepřetržitě světle se plně rozvíjely plodnice na okrajích kolonií, a vegetativní růst ustával.

3.1.4.4 pH

Hodnota pH pěstebního média hraje významnou roli v morfologických změnách *S. commune*. Příliš kyselá či zásaditá reakce vede k vytváření jedovatých látek jako je lysinoalanin který nepříznivě ovlivňuje růst houby (Yi Peng Teoh, 2012).

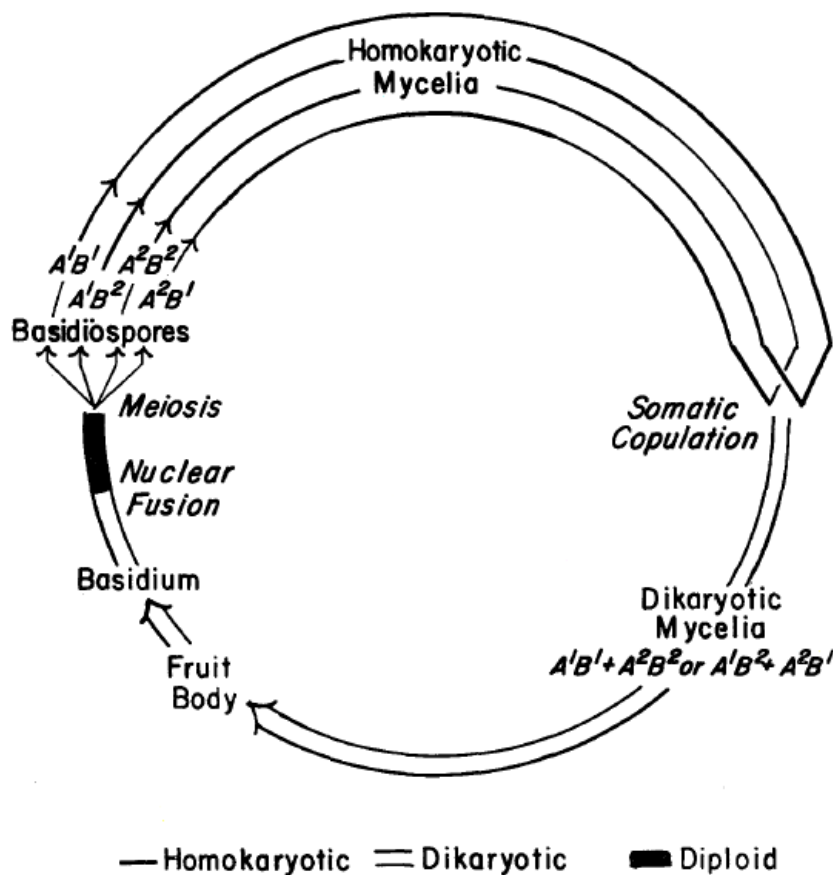
3.1.5 Rozmnožování, životní cyklus

Rozmnožování je u tohoto druhu pohlavní (sexuální), které je složeno ze tří fází: nejprve dojde ke splynutí dvou haploidních buněk (plazmogamii), potom ke splynutí haploidních jader (karyogamii), čímž vznikne jádro s dvojnásobným počtem chromozomů (diploidní), a konečně k redukčnímu dělení jader (meioze), kdy se sníží dvojnásobný počet jader na původní. Přitom je zásadně důležité, že při meioze dochází k výměně genetického materiálu mezi stejnými (homologickými) chromozomy. K zajištění přenosu a splynutí pohlavně rozdílných jader a slouží spojení haploidních buněk dvou morfologicky nerozlišených hyf (Jablonský, Šašek; 2006).

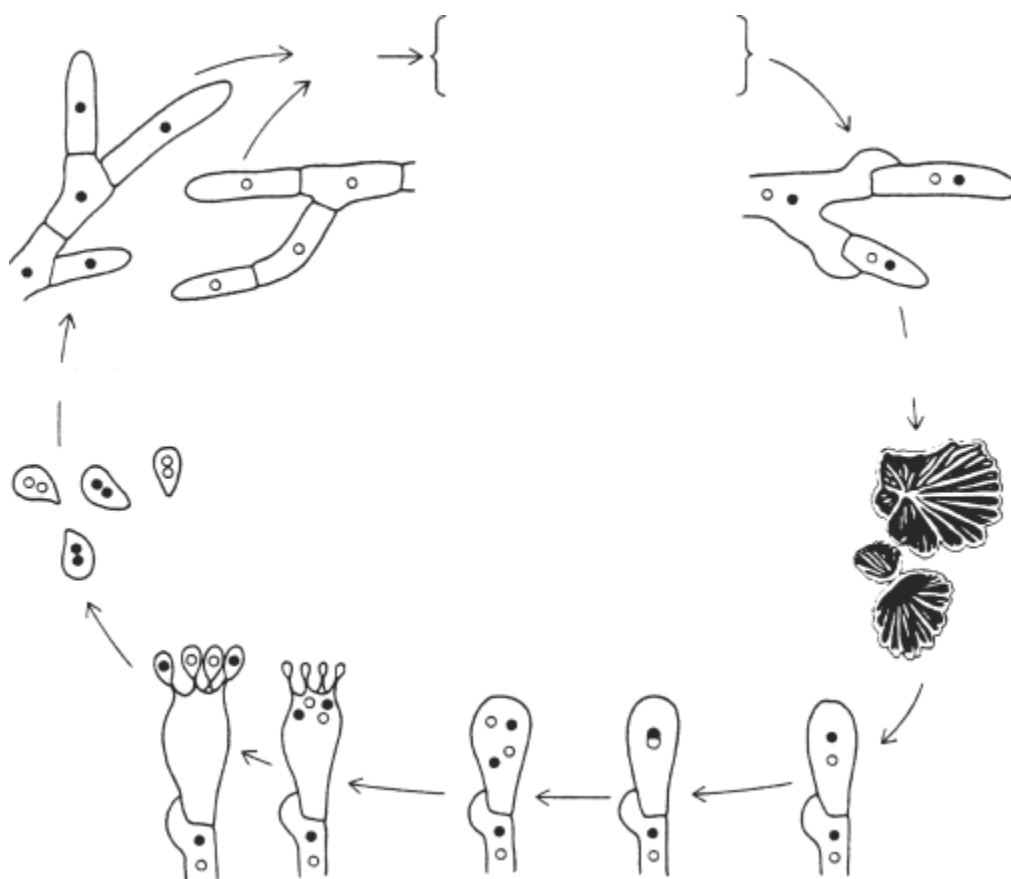
Plodnice jsou obvykle tvořeny dikaryotickým myceliem, které se při vhodných podmínkách růstového prostředí dostatečně rozroste a nahromadí potřebné množství živin. Procesy karyogamie a meiózy nastávají ve specializovaných buňkách nazývaných basidie, kde se tvoří haploidní basidiospory. Spory po klíčení tvoří haploidní homokaryony schopné nezávislého růstu (Voelz a Niederpruem, 1964).

Potenciál basidiomycety *Schizophyllum commune* generovat tisíce různých typů párování je důsledkem genetické variace na pouhých čtyřech lokusech nazývaných $A\alpha$, $A\beta$, $B\alpha$ a $B\beta$. $A\alpha$ a $A\beta$ jsou spojeny v genetickém komplexu nazývaném A a $B\alpha$, $B\beta$ spojeny v genetickém komplexu nazývaném B. A a B jsou umístěny na různých chromozomech. *Schizophyllum commune* má několik specifík nebo verzí u každého z těchto čtyřech lokusů. Na základě rozsáhlého odběru vzorků bylo zjištěno, že lokusy $A\alpha$, $B\alpha$, a $B\beta$ obsahují devět různých a $A\beta$ obsahuje 32 různých specifík. Je to kombinace těchto specifík, která určuje typ páření haploidních jedinců, například $A\alpha 1 A\beta 2 B\alpha 3 B\beta 4$ nebo $A\alpha 1 A\beta 2 B\alpha 1 B\beta 2$. Dva haploidní jedinci musí být plně kompatibilní tzn. pro kompletní pohlavní vývoj, musí mít rozdílné specifčnosti buď $A\alpha$ nebo $A\beta$ (Fowler a kol., 2004).

Dvojjaderné spory basidiomycety *Schizophyllum commune* klíčí na jednoduchém živném mediu (Voelz a Niederpruem, 1964).



Obr. 2 Schéma životního cyklu a způsob rozmnožování na genetické úrovni



Obr. 3 Životní cyklus houby *Schizophyllum commune* v obraze

3.1.5.1 Tvorba plodnic

Genetický základ je nejdůležitějším faktorem, který určuje výskyt plodnic a morfologii plodnic u houby *Schizophyllum commune*. (Raper, 1958)

Tvorba plodnic u vyšších Basidiomycét je nejvíce dramatický projev diferenciac a morfogeneze, které lze nalézt mezi houbami. Fruktifikace je obvykle vlastnost dikaryotického mycelia, které u heterohalických druhů je tvořeno z interakce kompatibilních homokaryotických kmenů, tím ale nejsou na dikaryotické fázi závislé. (Banerjee a kol., 2007)

Haploidní mycelium je též schopno tvořit plodnice. Mezi hlavní podmínky, které byly prokázány pro spuštění vývoje plodnic jsou: stárnutí mycelia, vyčerpání živin a mechanické poškození. Mohou to být i chemické látky, například metabolické produkty nepříbuzných druhů mikroorganismů, které iniciují fruktifikaci. (Leonard and Dick, 1968)

Monokaryotické i dikaryotické mycelium jsou schopny neurčitého vegetativního růstu v přítomnosti vhodných živin a světla.

3.1.6 Buněčná stěna

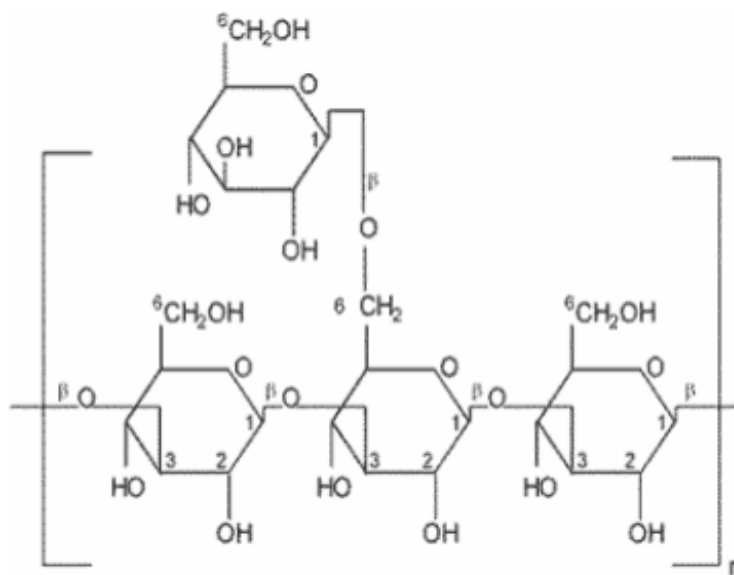
Buněčná stěna vláknitých Askomycét a Basidiomycét se skládá hlavně z (1-3), (1-6) β -glukan-chitinového komplexu, (1-3) α -glukanu, a (glyko) -proteinů (Sietsma a Wessels, 1994).

Tento komplex glukan-chitinových prekurzorů je syntetizován jako ve vodě rozpustný (1-3) beta-glukan a chitin, zpočátku vytvářející plastickou, hydratovanou gelovitou strukturu na vrcholech hyf. Následně se připojí β -glukan k chitinu a je modifikován zavedením (1-6) β vazby, což vede k tvorbě alkalicky nerozpustného beta-glukan-chitinového komplexu (Wessels, 1986).

Dále mnoho vláknitých hub produkuje ve vodě rozpustný (1-3) β -glukan s jednotlivými připojenými (1-6) β -vazbami glukózových zbytků. Sliz se volně se vyskytuje ve stěně a v médiu, a může být buď prekurzor, nebo degradační produkt alkalicky nerozpustného β -glukanu. Nerozpustnost charakteristická pro β -glukan je odvozena od jeho napojení na chitin (Sietsma a wessels., 1994).

Součástí proteinů buněčné stěny vláknitých hub jsou také hydrofobiny, které splňují širokou škálu funkcí. Například se podílejí na tvorbě vzdušné struktury a v připojení hyf na hydrofobní povrchy (Sietsma a Wessels, 1994).

Hydrofobiny jsou malé proteiny (asi 100 aminokyselin), které obsahují osm cysteinových zbytků v konzervativním vzoru a přestože mají poměrně různorodé složení aminokyselin hydrofobní vzor je podobný. Vylučovány jako monomery vykazují vlastnost samostatného shromáždění na hydrofilním/hydrofobním rozhraní, tvoří mříčkové filmy, které snižují povrchové napětí (Wetter a kol., 2001).



Obr. 4 Základní molekulární vzorec β -1,3/1,6-D-glukanu (www.natures.sk)

3.1.7 Vztah s ostatními houbami

Mezidruhový vztah mycelií se vyznačuje fyziologickými odpověďmi, jako je ukončení prodlužování mycelia, pigmentace, vznik bariéry, a zvýšené vylučování fenoloxidáz, což vede k předpokladu, že houby mají rozpoznávací mechanismus, který jim umožňuje odhalit a reagovat na nevlastní mycelia. Tyto mechanismy umožňují houbám bránit svůj prostor, čímž by se omezil přístup k čerpání živin ostatními druhy (Ujor a kol. 2012).

3.1.7.1 Mykoparazitismus

Bylo prokázáno, že *Schizophyllum commune* je mykoparazitem na několika fytopatogenních (*R.solani*, *F.moniliforme*) a nematofágních houbách. *Schizophyllum commune* vytváří krátké laterální větve, které svírají, proplétají a útočí na hostitelské hyfy a plodnice. Vpád nakonec vyústí v degradaci, rozpad a lézi hostitelských hyf. Nicméně, povaha stěn degradujících enzymů zůstává nejasná a zasluhuje další výzkum.

Endo- β -1,3(4)-glukanáza je hlavní enzym zodpovědný za rozpuštění a rozpad hostitelských buněčných stěn. *Schizophyllum commune* bylo schopno napadat širokou škálu hub s různými buněčnými stěnami a složkami. Nicméně, čistá endo- β -1,3(4)glukanáza potřebuje k rozpuštění živé hostitelské buňky ještě další enzymy k průniku. Celuláza (endo- β -1,4 glukanáza) může mít synergetický účinek s endo- β -1,3(4) glukanázou při rozpouštění buněčných stěn *R.solani*. (S.C.Chiu, 1994)

3.1.8Klanolístka obecná jako parazit na ovocných dřevinách

Houba proniká nejčastěji suky nebo hlubokými ranami v kmeni. Ranové hniloby bývají menšího rozsahu a počínají od menšího či většího poranění na kmeni, na jeho bázi nebo na větvích (Balabán, 1970).

Odumírání ovocných dřevin je specifickým projevem vzájemné interakce parazitických hub a hostitelských rostlin. Zařazujeme je do kategorie chorob, kde kromě ireverzibilního poškození infikovaných buněk, pletiv a orgánů dochází k vážnému fyziologickému poškození stromů i k biologickému znehodnocení plodů. Uvedené onemocnění ovocných dřevin nebezpečně postihuje stromy v plné plodnosti, nejvíce meruňky. Pěstitelům způsobují velké finanční ztráty ale i permanentní nedostatek tohoto jedlého ovoce na našem trhu (Janitor a Lacok, 1977).

Odumírání ovocných dřevin se netýká jedinců, ale jde o hromadné onemocnění a v některých oblastech může úplně ohrozit jejich pěstování.

V praxi není doceněný význam dřevokazných hub. Jejich hromadný výskyt v některých pěstovaných oblastech je evidentní nejen za posledních 20-30 let. Jejich ekologická plasticita tj. schopnost přizpůsobovat se současným změnám podmínek vyvolaných klimatickými změnami je velmi složitá. Zejména tím, že mnohé druhy se ve svojí parazitické činnosti chovají úplně jinak, než jsme je znali doteď (Janitor a Lacok, 1977).

Janitor a Lacok (1977) zjistili, že za poslední roky v některých pěstitelských lokalitách meruňek, broskvoní višni ale i jabloní se výrazně projevovat výskyt celé palety dřevokazných hub. Mezi nejvýraznější zařazují houby rodu: *Schizophyllum* sp., *Stereum* sp. a *Trametes* sp.. Kromě nich jsou v jednotlivých lokalitách zástupci i hub rodu: *Laetiporus* sp., *Chondrostereum* sp a *Lenzites* sp.

Uvedené druhy hub na fyziologicky oslabených jedincích výrazně akcelerují patologické projevy, které jsou výsledkem celé řady negativních abiotických, biotických a entropických jevů v systému pěstování (Janitor a Lacok, 1977).

Janitor a Lacok (1977) věnovali největší pozornost houbě *Schizophyllum commune* Fr. V posledních letech její rychlou expanzi zaznamenali i na dřevinách ve vybraném prostředí, kde její výskyt místy nabyl epifytoticní charakter. Nejvíce byl její výskyt zaznamenán při hnilobě ovoce ve skladovacích prostorech.

Janitor a Lacok (1977) implantovali suspenzi spor do jednotlivých 3-4 letých jedinců meruněk, kde po roce histologickými analýzami potvrdili, že houba *Schizophyllum commune* Fr., je typickým ranovým parazitem a je schopná myceliálně penetrovat do pletiv hostitelských rostlin a exploatovat cévní svazky nejen fyziologicky oslabených jedinců, ale i zdravé rostliny. Dokázali tímto parazitickou životní fází a také její aktivity podílející se na patologickém poškození cévního systému hostitelských rostlin. Dále potvrdil, že intenzita ucpávání je determinovaná vnímavostí hostitele a agresivitou patogena.

Také potvrdili její infekční aktivitu a objasnili dlouho nepotvrzenou domněnku o její možné parazitizaci a jejich odumírání.

Klanolístka obecná je ve svém projevu nejaktivnější, když se dostane do fyzického kontaktu s pletivy stromů v jarním období, před naléváním pupenů a v době ukončení vegetace. V období plné vegetace, houba zůstává v latentním stavu, hostitelská rostlina spouští obranné mechanismy a blokuje její vstup a kolonizaci do hostitelských pletiv (Janitor a Lacok, 1977).

3.1.9 Využití, léčivé účinky

Houby jsou známy jako organismy, které mají přirozeně se vyskytující antioxidanty. A to díky fenolovým a polysacharidovým sloučeninám. Jsou nejen ceněny jako velmi chutné a nutriční, ale také jako významný zdroj biologicky aktivních sloučenin léčivé hodnoty (Klaus a kol. 2010).

S ohledem na nutriční vlastnosti, *S. commune* obsahuje značné množství bílkovin (22 %) surové vlákniny (3,59 %) a sacharidů (59,56 %), proto může být považována za výživnou potravinu. (Reyes a kol., 2004) Obsahuje také četné vitamíny jako je thiamin a riboflavin, které by mohly mít preventivní účinky proti rakovině a trombóze. (Tokumitsu Okanuta-Matsui a kol., 2001). Analýza vzorků z rodu *Schizophyllum* dokázala, že produkuje nejméně

tři identifikovatelné biopolymery ve vhodném kultivačním médiu, a to 24 kDa hydrophobin, protein 17 kDa, a schizophyllan (Martin a kol., 1999).

Tokumitsu Okanuta-Matsui a kol. (2001) zjistili, že některé houby, včetně klanolístky obecné mají laktátdehydrogenázy a enzym srážející mléko. Vyrobili tedy sýr, obsahující *S. commune* v očekávání, že jeho konzumace může působit proti rakovině, trombóze a může přinášet další zdravotní výhody.

Klanolístka obecná může být použita při odbarvování textilií. Odbarvení probíhá ve dvou fázích: Barva je adsorbována na buněčné periferie a následně je akumulována do biomasy. Bylo také prokázáno, že dokáže odstranit oranžovou kyselinu 7, červenou kyselinu a reaktivní černou 5 s maximální specifickou absorbcí 44.23, 127.53 a 180.17 (mg/g) (Renganathan a kol, 2006).

3.1.8.1 Chitin-glukanový komplex

Chitinglukanový komplex (CGC) je obecný název pro širokou škálu biologických kopolymerů složených z makromolekuly chitinu s kovalentně spojeným β -Dglucanovými řetězci. Komplex se přirozeně vyskytuje v buněčné stěně vláknitých hub, kde tvoří tuhá mikrovláknna, která se podílejí na mechanické pevnosti buněčné stěny.

CGC mohou být získány z mycelia různými fyzikálně-chemickými a enzymatickými metodami, s použitím anorganických činidel, organických rozpouštědel, detergenty, atd. (Dzianis a kol.,2011).

3.1.8.2 Schizophyllan

Schizophyllan je neionogenní, homopolysacharid sestávající z lineárního řetězce β D-(1-3) –glucopyranosylové skupiny a β -D (1-6) -glucopyranosylové skupiny produkovan vlákniitou houbou *Schizophyllum commune* pomocí fermentace. (Rau a kol., 1992).

Je složen z glukózových polymerů různých velikostí a stupněm větvení, ale často se skládá z (1 \rightarrow 3)- β -D-glukan hlavních řetězců s 1, 6 – β -D-glukosylových postranních skupin (Mueller et al., 2000).

Schizophyllan působí jako modifikátor biologické odezvy a specifický stimulator imunitního systému. Používá se v vakcínách, protirakovinné terapii,

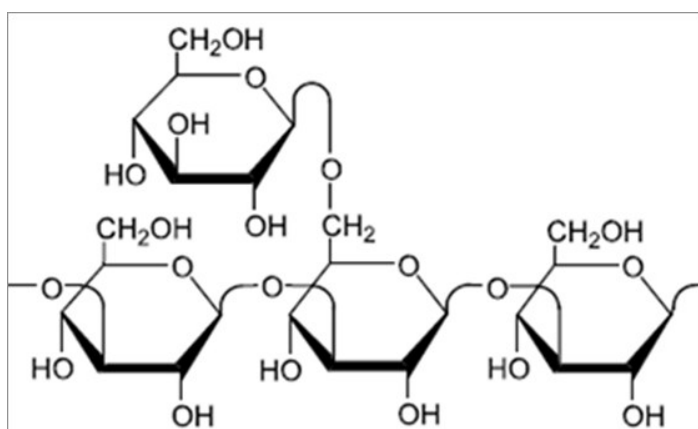
ajakobioaktivní složky kosmetiky. Schizophyllan může vytvořit pro kyslík nepropustnou vrstvu při konzervaci potravin. Dále byl testován pro použití v rozšířeném využitíropy (N. Sutivisedsak a kol, 2012).

Jedná se o přírodní polysacharid, proto je možné předpokládat, že schizophyllan je biologicky odbouratelný. Mnoho aplikací spoléhá na tomto předpoklad. Nicméně, je k dispozici velmi málo informací o biodegradaci schizophyllanu (N. Sutivisedsak a kol, 2012).

Schizophyllan je zcela rozpustný ve vodě, tvoří viskózní roztoky. Rozpouštění se ve studené vodě je časově náročný proces, a proto se doporučuje rozpouštění v horké vodě. Schizophyllan má schopnost tvořit mikrogel. Má omezenou rozpustnost v roztoku alkoholu. Pro plné rozpuštění musí být koncentrace alkoholu menší než 40%. Je nerozpustný v nepolárních rozpouštědlech (Contiprobiotech, 2014).

Contiprobiotech vyvíjí kosmetické přípravky na bázi schizophyllanu pro jeho schopnost regulovat reakce různých typů buněk na vnější podněty, a tím pozitivně ovlivňovat jejich životaschopnost. Schizophyllan má schopnost ovlivňovat jak keratinocyty což vede ke zvýšení produkce prekurzorů NMF (přírodní hydratační faktor), tak i fibroblasty a vykazuje velmi zajímavé pozitivní účinky ve zmírnění projevů viditelných znaků stárnutí kůže.

Ve sledování in vivo, bylo prokázáno, že schizophyllan má výraznou schopnost redukovat vrásky. Došlo k výraznému snížení rozsahu a hloubky vrásek. V kombinaci se zvýšenou hydratací kůže, vede k celkovému zlepšení vzhledu a stavu pokožky, subjektivním vnímáním, který byl také opakovaně potvrzen dobrovolníky (Contiprobiotech, 2014).



Obr. č. Molekulární vzorec schizophyllanu

(tradekorea.com)

3.2. Hlíva ústříčná- *Pleurotus ostreatus*

3.2.1 Řecký a latinský původ pojmenování

Pleurotus pochází z řeckého slova „pleuro“, které znamená mimo střed nebo rostoucí z boku, poukazuje na umístění třeně vzhledem ke klobouku. Druhé pojmenování *ostreatus* poukazuje na podobu škeble tvarem i barvou (Stamets and Chilton, 1983).

3.2.2 Taxonomické zařazení

Říše: Houby - Fungi

Oddělení: houby stopkovýtrusné - Basidiomycota

Třída: stopkovýtrusné - Basidiomycetes

Podtřída: houby rouškaté - Agaricomycetidae

Řád: lupenotvaré - Agaricales

Čeleď: hlívovité - Pleurotaceae

Rod: hlíva - *Pleurotus*

(Kalina a Váňa, 2005)

3.2.3 Popis, výskyt

Klobouk je 5-15(20) cm široký, pružně masitý, v mládí na okraji úzce podvinutý a mírně sklenutý, pak rozložený, jazykovitý až vějířovitý, zbarvením velice proměnlivý, špinavě šedavě okrový nebo šedý až šedohnědý, někdy modrošedý až skoro modročerný, na povrchu hladký a suchý. Dužina je dosti tlustá, bělavá příjemné vůně a chuti. Lupeny jsou

bělavé až našedlé, dosti řídké, celokrajné, daleko sbíhající na třeň. Třeň je krátký, 1,5-5(8) cm dlouhý a 0,8-2(2,5) cm tlustý, obvykle silně excentrický až postranní, bílý, pak bělavý nebo našedlý, pokrytý štětinatou bílou plstí (hlavně na bázi), hladký nebo podélně naznačeně rýhovaný. Plodnice jsou obvykle hustě trstnaté, střechovitě nad sebou uspořádané. Výtrusy jsou válcovité, naspuďu šikmo přišpičatělé, hladké, bezbarvé, neamyloidní, 8-12 x 3-4 mikrometry velké. Hlíva ústříčná je velmi proměnlivá a tvoří řadu barevných forem nebo odrůd; bledá, tenká odrůda roste hlavně v horách na bucích a tlustší tmavě hnědošedá roste spíše v nižších polohách a na jiných listnácích (javorech, vrbách, jírovcích, atd). Dobrá jedlá houba ve všech úpravách (Balabán, 1970).

Hlívu zařazujeme mezi gymnokarpní druhy kloboukatých hub, což znamená, že v průběhu vývoje plodnice nejsou její lamely nikdy kryty obalem. To je důležité z praktického hlediska, protože již mladé plodnice uvolňují spory z postupně zrajících lamel (Jablonský a Šašek, 2006).

Plodnice hlívy ústříčné jsou jednoleté a rostou od jara až do zimy (hlavně však na podzim) velice hojně převážně na listnácích, především na vrbách (*Salix*), topolech (*Populus*), jírovcích (*Aesculus*), lípách (*Tilia*), jeřábech (*Sorbus*), javorech (*Acer*), bucích (*Fagus*), břízách (*Betula*), a vzácně na jehličnatých dřevinách. Z ovocných stromů napadá tato houba občas jen jabloně (*Malus*) a ořešáky (*Juglans regia*). Tento druh je rozšířen od nížin až vysoko do hor (Balabán, 1970).

Mycelium působí bělavé trouchnivění bělového i jádrového dřeva stromu, které však není příliš aktivní, a proto také je houba méně nebezpečná. Infekce proniká do živého stromu různými ranami, hlavně však mrazovými trhlinami a nezahojenými ranami po ulomených nebo uřezaných větvích. Pevnost kmene a větví je tak oslabována (Balabán, 1970).

3.2.4 Fyziologické požadavky

Suroviny, na kterých hlíva roste, můžeme charakterizovat jako lignocelulozové odpady, tedy látky obsahující lignin, celulozu a hemicelulozu. (Jablonský a Šašek, 2006) Přizobeným prostředím hlívy je dřevní hmota, kterou mycelium rychle prorůstá. Ve dřevě za omezeného přístupu kyslíku, roste rychleji než některé jiné konkurenční houby (Jablonský a Šašek, 2006).

3.2.3.1 Vlhkost substrátu

Substrát je třeba namočit tak, aby nebyl ani příliš přemokřený (osidlují ho bakterie), ani příliš suchý (vyhovuje spíše růstu zelených plísní). Správnou vlhkost substrátu je třeba udržovat po dobu celého trvání kultury (Jablonský a Šašek, 2006). Během přípravy substrátu by měl být materiál namočený po dobu 12-24 hodin ve vodě aby se dosáhlo vlhkosti substrátu 65-70%

3.2.3.2 Teplota

Mycelium hlívy dosahuje maximálního růstu při teplotě 28 °C. Pro klíčení spor je optimální teplota též 28 °C. Při teplotě 20 °C je růst mycelia zpomalený, což kulturu hlívy může znevýhodnit proti některým kompetičním mikroorganismům. Růst mycelia se zcela zastaví při 5°C. Mycelium nepoškodí ani mráz, po zvýšení teploty mycelium opět začíná růst a kultura opět vytváří plodnice. Mycelium hlívy odumírá, pokud je vystaveno teplotě nad 32-35°C v závislosti na vlhkosti substrátu. Optimální nasazování zárodků plodnic hlívy ústřičné probíhá při teplotě 8-12°C. a zcela se zastavuje, jakmile teplota přesáhne 15°C (Jablonský a Šašek, 2006).

3.2.3.3 pH

Optimální hodnota pH pěstebního substrátu během růstu podhoubí hlívy ústřičné je v rozmezí 5,5-6,5. Růst mycelia mimo rozmezí uvedených hodnot je zpravidla pomalejší. Při přípravě substrátu se jeho pH upravuje přidávkem vápence (Jablonský a Šašek, 2006).

3.2.3.4 Vliv světla

Během prorůstání mycelia substrátem hlíva osvětlení nevyžaduje, avšak během nasazování a vývoje plodnic je potřebná intenzita osvětlení alespoň 100-400 luxů (měřeno na povrchu substrátu). Při vyšší teplotě, kdy plodnice rostou rychleji, má hlíva větší nároky na osvětlení (až 400 luxů) než při nízkých teplotách. Při nedostatku osvětlení reaguje plodnice

tvorbou protáhlého třeně a zakrnělého klobouku. V úplné tmě se vytvářejí temnostní formy připomínající tvarem květák (Jablonský a Šašek, 2006).

3.2.3.5 Vliv oxidu uhličitého

Během prorůstání substrátu dosahuje mycelium vyšší rychlosti růstu, pokud je v substrátu koncentrace 2000-3000ppm oxidu uhličitého. Vysoká koncentrace oxidu uhličitého potlačuje růst konkurenčních zelených plísni. V průběhu nasazování a vývoje plodnic je potřeba pěstírnu intenzivně větrat, při vyšší koncentraci oxidu uhličitého se vyvíjejí deformované plodnice-protáhlé třeně, které jsou většinou šroubovitě stočené, klobouk je zakrnělý a dužina měkká. Prorůstání podhoubí substrátem je semiaerobní (za částečného přístupu vzduchu), zatímco tvorba plodnic je proces aerobní (za přístupu vzduchu) (Jablonský a Šašek, 2006).

3.2.4 Pěstování, životní cyklus hlívy

Pro pěstování hlívy se používá zrnitá sadba narostlá na zrnech žita, pšenice nebo prosa. Obvykle stačí dávka sadby o 2-3% hmotnosti hotového substrátu. Nejaktivnější je mycelium prorůstající v substrátu mezi 6-9 dnem. Pro správný růst je nutné udržovat správnou teplotu, větrat čerstvým vzduchem a udržovat relativní vlhkost 80-85%.

Plodnice se vytvářejí v trsech uspořádaných taškovitě nad sebou. Plodnice se objevují ve vlnách. První vlna se sbírá zpravidla po 25-35 dnech od osázení substrátu v závislosti na použitém kmeni, druhu substrátu a pěstebních podmínkách. Okamžik sběru se volí podle vzhledu plodnic. Sklízíme najednou celé trsy, kdy většina plodnic má mírně podvinutý okraj klobouku. Sklízí se většinou pouze dvě vlny a potom se substrát využívá k dalším účelům. Vyplozený substrát obsahuje četné enzymy a další biologicky aktivní látky. Úspěšně je například používán jako krmivo pro prasata nebo jako základ do vermikompostů. Výnos plodnic bez třenů v přepočtu na procenta původního substrátu a kolísá v rozmezí 15-30% hmotnosti substrátu (Jablonský a Šašek, 2006).

3.2.5 Léčivé účinky

Analýzy prokázaly vysoký obsah léčivých látek v plodnicích. Hlíva obsahuje specifický β -D-Glukan, nazývaný pleuran. Glukany zvyšují aktivitu imunitního systému, jejich antineoplazmatická aktivita spočívá v aktivaci buněčného imunitního systému. Glukany zvyšují aktivitu NK buněk a projevují protivirové a protizánětlivé vlastnosti, také přispívají k snížení cholesterolu. Aktivací dalších komponent imunitního systému dosahují glukany toho, že makrofágy průběžně odstraňují z cév usazeniny (plaque), které považují za cizorodé látky (Jablonský a Šašek, 2006).

Hlíva je dobrý zdroj beta-1,3/1,6 glukanu. Tyto molekuly stimulují imunitní systém a pomáhají při boji s nádorovými buňkami, také posilují organismus při poškození buněk při chemoterapii a radioterapii (Stamets, 2000).

Hlíva také obsahuje mevinolin a další sloučeniny, které inhibují reductázu, enzym který je využíván při syntéze cholesterolu. Užívání hlívy ústřičné může snížit hladinu cholesterolu.

Vyrábí se mnoho doplňků stravy s obsahem hlívy ústřičné, jako jsou například vitaglukanové tablety a nápoje vyrobené z extraktu glukanu, které podporují imunitní systém a snižují úroveň cholesterolu při prevenci srdečních chorob. Hlíva také působí proti vysokému krevnímu tlaku, pomáhá při odstraňování únavy a přináší dlouhověkost. Pomáhá při kocovině, zácpě a je také afrodiziakum (Stamets, 2000).

3.3 Dřevní štěpka

3.3.1 Charakteristika

Dřevo je tvořeno třemi základními složkami: celulózou (asi 50%), hemicelulózami (22-28%) a ligninem (26-35%). Dřevo obsahuje i látky zvyšující odolnost proti houbám a hmyzu. Tyto schopnosti mají třísloviny, pryskyřice a některé alkaloidy (dřevocentrum)

Dřevní štěpka je strojně nakrácená a nadrcená dřevní hmota. Je získávána z odpadů lesní těžby a průmyslového zpracování dřeva nebo z rychle rostoucích dřevin (Biom.cz).

Zelená štěpka (lesní)

Štěpka získaná ze zbytků po lesní těžbě. Lze v ní nalézt nejen části drobných větví, ale také listů, případně jehličí – proto zelená štěpka. Tím, že se zpracovává čerstvá hmota, je vlhkost této štěpky vysoká.

Hnědá štěpka

Štěpka získaná ze zbytkových částí kmenů, pilařských odřezků apod. Sjednocujícím prvkem je obsah kůry. Dříví totiž nebylo před zpracováním odkorněno, lze tedy na jednotlivých štěpkách rozpoznat části kůry.

Bílá štěpka

Štěpka získaná z odkorněného dříví, obvykle odřezků při pilařské výrobě. Ani na jednotlivých štěpkách se již nenachází kůra (narozdíl od štěpky hnědé). Využívá se především pro výrobu dřevotřískových desek.

(Biom.cz)

3.3.2 Využití

Nejrozšířenější způsob využití štěpky je k vytápění budov spalováním v kotlích (Biom.cz).

3.3.3 Štěpkovače

Organické zbytky po řezu dřevní hmoty ve vinicích, sadech, okrasných zahradách a parcích je vhodné zpracovávat v štěpkovačích. V těchto strojích se výrazně zmenšuje objem zbytků a vytváří se zhomogenizovaná hmota. Štěpkovače jsou stroje pro zpracování dřevních zbytků vytvářejících štěrky do různé velikosti podle požadavků na konečný produkt. (Kumhála a kol, 2007)

Štěpkovače drtí organické zbytky na malé částice o objemu 5 až 50 mm³, není-li jiný požadavek. Musí zpracovávat zbytky suché, polosuché i vlhké a při práci stroje nesmí docházet k častému ucpávání. Drticí a štěpkovací ústrojí musí být odolné vůči oděru z případných příměsí zpracovávaného materiálu. Práce s drtičem a štěpkovačem musí být bezpečná při zachování podmínek bezpečnosti práce (Kumhála a kol, 2007).

Drticí a štěpkovací ústrojí bývá provedeno ve tvaru nožové frézy s pevnými nebo otočnými noži. Častá bývá i jejich kombinace. Nože musí být vyrobeny z houževnatého a otěruodolného materiálu. Tvar nožů je různý podle jednotlivých výrobců. Konstrukce pláště drtičů a štěpkovačů usnadňují přístup k ústrojí. Nožová hlava je nejčastěji uložena vodorovně. V poslední době se využívá šikmého uložení nožové hlavy k snadnějšímu vedení větví do řezu (Kumhála a kol, 2007).

4. Metodika

4.1 Rozložení pokusů

4.1 Vliv ošetření jabloňové a slivoňové štěpky na růst klanolístky a hlívy

Pokus č. 1

sterilizováno

6 sklenic slivoňová štěpka: 3 sklenice hlíva, 3 sklenice klanolístka

6 sklenic jabloňová štěpka: 3 sklenice hlíva, 3 sklenice klanolístka

nesterilizováno

6 sklenic slivoňová štěpka: 3 sklenice hlíva, 3 sklenice klanolístka

6 sklenic jabloňová štěpka: 3 sklenice hlíva, 3 sklenice klanolístka

4.2 Porovnání růstu mycelia *Schizophyllum commune* a *Pleurotus ostreatus* na sterilizované a namočené jabloňové a slivoňové štěpce

Pokus č. 2

Chemicky sterilizováno

6 sklenic jabloňová štěpka: 3 sklenice klanolístka, 3 sklenice hlíva

6 sklenic slivoňová štěpka: 3 sklenice klanolístka, 3 sklenice hlíva

Namočeno ve vodě

6 sklenic jabloňová štěpka: 3 sklenice klanolístka, 3 sklenice hlíva

6 sklenic slivoňová štěpka: 3 sklenice klanolístka, 3 sklenice hlíva

4.3 Porovnání růstu mycelia *S. commune* na štěpce slivoní podrobené fermentaci

Pokus č. 3

Fermentováno

10 sklenic klanolístka

10 sklenic hlíva

4.4 Porovnání růstu mycelia *Schizophyllum commune* a *Pleurotus ostreatus* na slivoňové štěpce s růstem na vyplozeném substrátu

Pokus č. 4

Slivoňová štěpka:

4 sklenice hlíva (kontrola), 4 sklenice klanolístka

2 „tlačanky“ hlíva, 2 „tlačanky“ klanolístka

Vyplozená štěpka:

4 sklenice hlíva (kontrola), 4 sklenice klanolístka

2 „tlačanky“ hlíva, 2 „tlačanky“ klanolístka

4.5 Interakce mezi myceliem hlívy ústříčné a klanolístky obecné

Pokus č. 5

Slivoňová štěpka:

4 „tlačanky“ z jednoho konce hlíva z druhého klanolístka

Vyplozená štěpka:

4 „tlačanky“ z jednoho konce hlíva z druhého klanolístka

4.2 Materiál

Pro založení pokusů byla potřeba jabloňová (z VÚRV Ruzyně) a slivoňová štěpka (z pokusného pole ČZU Troja), sklenice omnia, voda, tenzid Empigen, polypropylenové rukávce („tlačanky“), svářečka na rukávce, alobalové fólie, bakteriologické zátky z vaty, fix na označení variant a zaznamenávání přírůstků. Při očkování byl využit flow box, zrnitá sadba klanolístky obecné (divoký kmen ze sbírky VÚRV Ruzyně) a hlívy ústřičné (kmen 35), lihový kahan, lžíce, technický líh a papírové ubrousky. V letních měsících byla sledována teplota rtuťovým teploměrem. K sterilizaci substrátu byl použit autokláv. Fermentace substrátu proběhla v termostatu. Slivoňová a jabloňová štěpka byla zpracována pomocí štěpkovače z ořezaných větví příslušných ovocných stromů.

Tenzid Empigen

Tenzid je organická látka, která je schopna se hromadit již při nízké koncentraci na fázovém rozhraní a tím snižovat mezifázovou energii soustavy.

Tenzidy spolu s dalšími látkami tvoří detergent. Detergence je schopnost převádět nečistotu z pevného povrchu do objemové fáze roztoku (Šmidrkal, 1999).

4.3 Postup založení pokusů

4.3.1 Pokus č. 1

Jabloňová a slivoňová štěpka byla naplněna 1cm pod okraj do vymytých sklenic omnia. Tyto sklenice byly naplněny vodou a štěpka se namáčela 24 hodin, poté se sklenice otočily a na 1 hodinu nechaly odkapat.

První polovina sklenic byla vložena do autoklávu a sterilizována po dobu 2,5 hodin při teplotě 121°C. Po zchladnutí sterilizovaných sklenic byly obě varianty na povrch substrátu očkované zrnitou sadbou ve flow boxu a přikryty sterilizovanou hliníkovou fólií a označeny dle příslušné varianty. Sklenice byly vyskládány do plastové bedýnky a umístěny do místnosti se stálou teplotou.

4.3.2 Pokus č. 2

Vymyté sklenice byly naplněny štěpkou a první polovina zaleta horkou vodou, zbytek 0,16% roztokem tenzoru Empigen. Po 24 hodinách se na 1 hodinu sklenice překlápily, aby vytekla přebytečná voda. Při očkování jsme postupovali jako v pokusu č.1.

4.3.3 Pokus č. 3

Štěpka slivoní byla naplněna do sklenic omnia a poté namočená po dobu 24 hodin ve vodě, poté se nechala na 1 hodinu odkapat. Tyto sklenice byly přikryty hliníkovou fólií a poté umístěny na 3 dny do termostatu při 30 °C. Po 3 dnech byla teplota v termostatu změněna na 50°C a takto ponechána po dobu 24 hodin. Takto připravený substrát byl očkován ve flow boxu jako v pokusu č. 1.

4.3.4 Pokus č. 4

Štěpka byla naplněna do 4 sklenic Omnia od každé varianty a sklenice byly naplněny vodou, po 24 hodinách se nechaly odkapat. Vlhkost čerstvé štěpky byla 60% a vyplozené 63,5%. Poté byly sklenice se štěpkou vysterilizovány při 121⁰C po dobu 2,5 hodin v autoklávu. Po zchlazení byl substrát zaočkován tak jako v pokusu č. 1. Čerstvá štěpka měla vlh

Pro druhou variantu byly svařeny polypropylénové rukávce s uzavřeným dnem o průměru 20cm a délce 35cm byla naplněna do poloviny čerstvá (vlhkost 60%) a do zbylých vyplozená (vlhkost 57%) jabloňová štěpka. Varianty byly zaočkovány dle rozložení pokusu. Poté byly rukávce uzavřeny bakteriocidními zátkami z vaty a zajištěny gumičkou.

4.3.5 Pokus č. 5

Při přípravě rukávců bylo postupováno jako v pokusu č. 4. Do těchto rukávců byla zaočkována z každé strany jedna houba. Jednotlivé varianty byly zaočkovány dle rozložení pokusu.

5. Výsledky

5.1. Statistické vyhodnocení pokusů

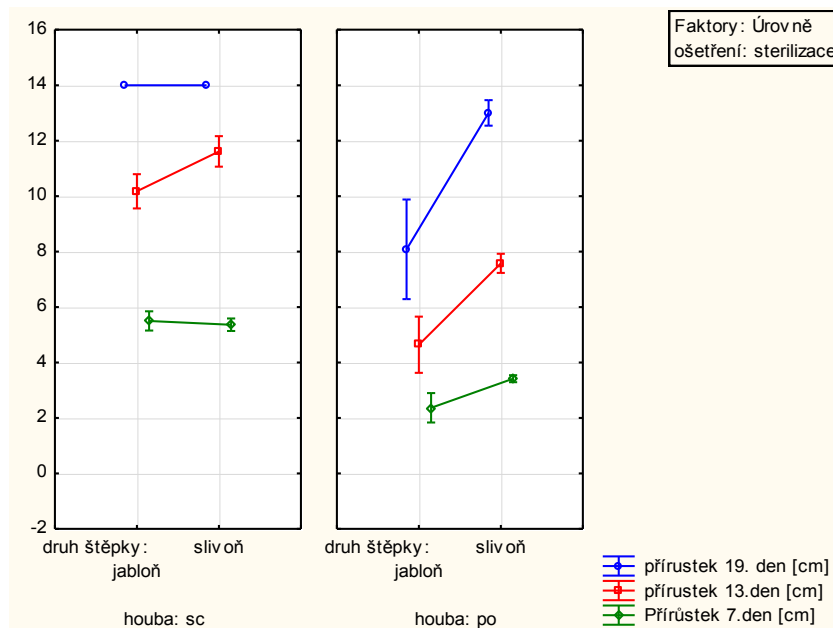
5.1.1 Statistické vyhodnocení pokusu č. 1

1. měření, 7. den: Nejrychleji rostlo podhoubí klanolístky na sterilizované štěpce, hlíva na sterilizované štěpce rostla pomaleji. Na namočené štěpce se začala vyskytovat kontaminace plísněmi, přesto na ni hlíva ústříčná prorostla lépe než na štěpce sterilizované. Klanolístka na jabloňové namočené štěpce dosáhla dobrého výsledku, na slivoňové byl růst minimální.

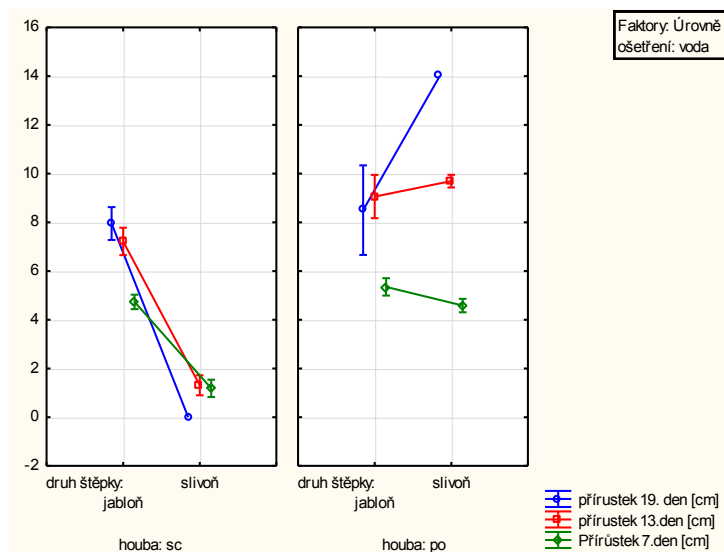
2. měření, 13. den: Nejlepšího výsledku dosáhla na sterilizované štěpce klanolístka, na namočené jabloňové štěpce rostla dobře. Na slivoňové štěpce se spíše dařilo plísním. Hlíva nejlépe prorůstala štěpku namočenou i přes mírnou kontaminaci plísněmi, na sterilizované štěpce dosáhla průměrného výsledku.

3. měření, 19. den: Klanolístka na sterilizované štěpce dorostla ke dnu, na jabloňové namočené štěpce dosáhla průměrného výsledku, namočená slivoňová štěpka byla silně kontaminovaná a klanolístka téměř potlačena.

Výsledky růstu mycelia klanolístky a hlívy při ošetření jabloňové a slivoňové štěpky sterilizací



Výsledky růstu mycelia klanolístky a hlívy na namočené jabloňové a slivoňové štěpky



Míra kontaminace v % povrchu sklenic (hodnoceno opticky, odhadem) při posledním měření

substrát	houba	číslo sklenice	prorostení myceliem (%)	kontaminace plísněmi (%)
Sterilizace jabloň	klanolístka	1	100	0
		2	100	0
		3	100	0
	hlíva	4	0	60
		5	60	10
		6	100	0
Namočená jabloň	klanolístka	7	50	40
		8	30	50
		9	50	30
	hlíva	10	0	40
		11	90	10
		12	60	20
Sterilizace slivoň	klanolístka	13	100	0
		14	100	5
	hlíva	15	100	0
		16	80	2
		17	100	0
Namočená slivoň	klanolístka	18	0	60
		19	0	50
		20	0	70
	hlíva	21	90	15
		22	80	20
		23	90	10

5.1.2 Statistické vyhodnocení pokusu č. 2

1. měření, 6. den: na štěpce ošetřené Empigenem podhoubí hub nenarostlo, začaly se objevovat plísně. Namočená jabloňová štěpka byla mírně prorostlá, slivoňová vůbec. Plíseň také začala růst na namočených štěpkách.

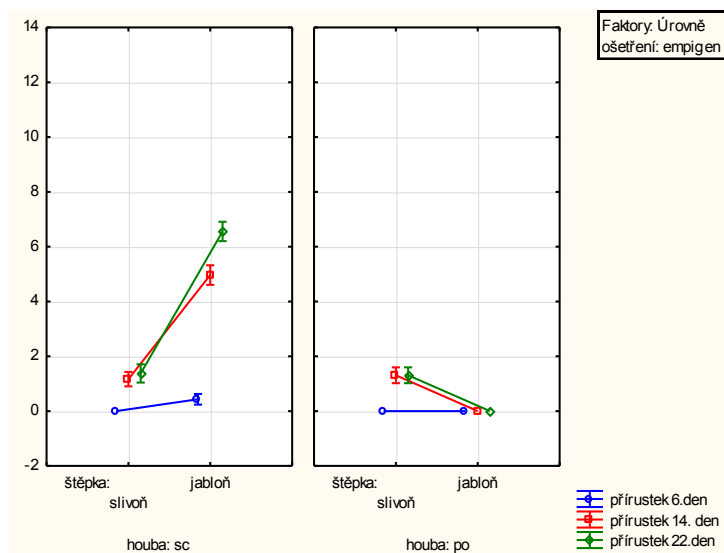
2. měření, 14. den: Slivoňovou štěpku ošetřenou Empigenem klanolístka prorostla minimálně, na namočené štěpce postupovala velice pomalu. Na jabloňové štěpce ošetřené Empigenem byl výsledek klanolístky mnohem lepší než na slivoňové.

Hlíva na slivoňové štěpce ošetřené empigenem rostla minimálně, na jabloňové vůbec. Rozvoj plísni byl na vysoké úrovni. Na namočeném substrátu hlíva dobře prorůstala, nejlépe na jabloňovém, na slivoňovém byl výsledek také dobrý.

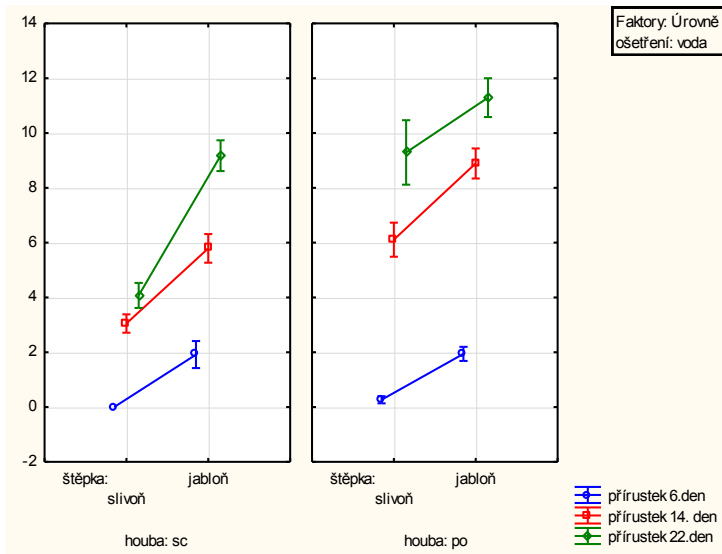
3. měření, 22. den: Nejlepšího výsledku dosáhla hlíva na namočené štěpce, nejhůře dopadla hlíva na štěpkách ošetřených Empigenem.

Klanolístka rostla nejlépe na jabloňové namočené i chemicky ošetřené štěpce. Na chemicky ošetřené slivoňové štěpce růst ustal, na namočené slivoňové štěpce byl přírůstek minimální, kontaminace plísněmi byla příliš vysoká.

Výsledky prorůstání mycelií klanolístky a hlívy na jabloňové a slivoňové štěpce ošetřené empigenem



Výsledky prorůstání mycelií klanolístky a hlívy na namočené jabloňové a slivoňové štěpce



Míra kontaminace v % povrchu sklenic (hodnoceno opticky, odhadem) při posledním měření

Substrát	houba	číslo sklenice	Prorostení myceliem (%)	kontaminace plísněmi (%)
Jabloň empigen	klanolístka	1	40	50
		2	35	60
		3	40	50
	hlíva	4	0	100
		5	0	80
		6	0	60
Namočená jabloň	klanolístka	7	70	15
		8	65	10
		9	60	25
	hlíva	10	80	15
		11	80	10
		12	65	20
Slivoň empigen	klanolístka	13	10	50
		14	0	70
		15	15	30
	hlíva	16	15	40
		17	10	30
		18	0	50
Namočená slivoň	klanolístka	19	25	60
		20	20	60
		21	20	40
	hlíva	22	70	15
		23	70	10
		24	20	40

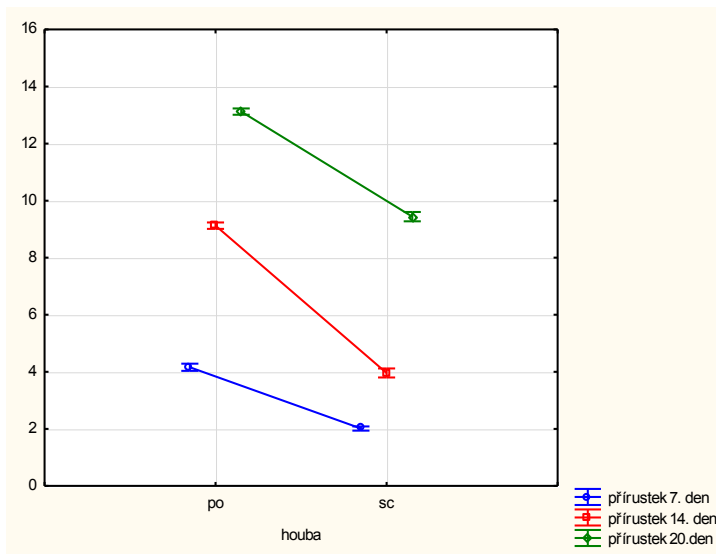
5.1.3. Statistické vyhodnocení pokusu č. 3

1. měření, 7. den: Lepší přírůstek měla hlíva, přírůstek klanolístky byl poloviční. Plísně nebyly přítomny.

2. měření, 14. den: Přírůstek hlívy byl ještě větší než při 1. Měření. Klanolístka si udržela stejné tempo růstu.

3. měření, 20. den: Hlíva dorostla téměř ke dnu sklenic, přírůstek byl ale menší oproti minulým měřením. Přírůstek klanolístky byl největší.

Přírůstky mycelií hlívy a klanolístky na fermentované slivoňové štěpce



Míra kontaminace v % povrchu sklenic (hodnoceno opticky, odhadem) při posledním měření

Substrát	houba	číslo sklenice	Prorostení myceliem (%)	kontaminace plísněmi (%)
Fermentovaná slivoňová štěpka	hlíva	1	90	0
		2	90	0
		3	90	5
		4	100	0
		5	90	0
		6	95	0
		7	90	10
		8	98	0
		9	90	0
		10	90	0
	klanolístka	11	60	10
		12	70	0
		13	60	0
		14	75	0
		15	75	0
		16	75	5
		17	75	5
		18	75	0
		19	70	0
		20	70	0

5.1.4 Statistické vyhodnocení pokusu č. 4

1. měření, 6. den: Růst hlívy i klanolístky na obou štěpkách byl vyrovnaný.

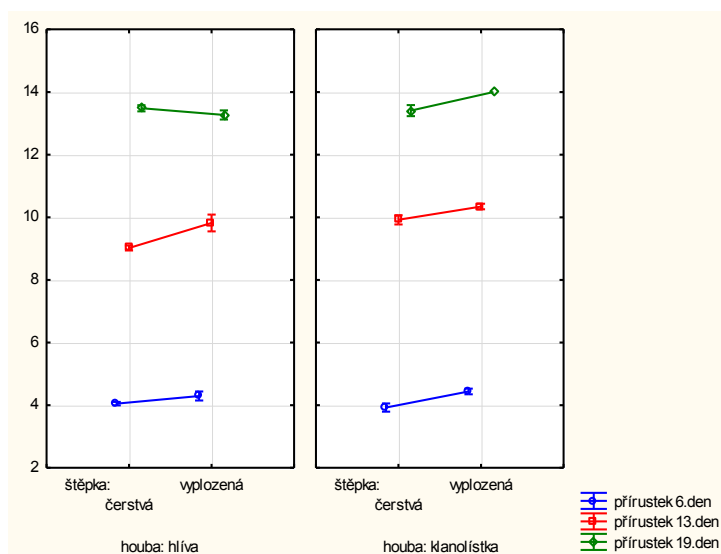
2. měření, 13. den: Nejlepšího výsledku dosáhla klanolístka na vyplozené štěpce, na čerstvé byl přírůstek o něco menší.

Hlíva též lépe rostla na vyplozené štěpce, na čerstvé štěpce byl přírůstek nejmenší.

3. měření, 19. den: Klanolístka na vyplozené štěpce prorostla na dno sklenic.

Hlíva měla největší přírůstek ze všech variant na čerstvé štěpce.

Výsledky prorůstání mycelia hlívy a klanolístky na slivoňové a vyplozené štěpce



Míra kontaminace v % povrchu sklenic (hodnoceno opticky, odhadem) při posledním měření

Substrát	houba	číslo sklenice	Prorostení myceliem (%)	kontaminace plísněmi (%)
čerstvá slivoňová štěpka	klanolístka	1	90	0
		2	100	0
		3	90	5
		4	100	0
	hlíva	5	90	0
		6	90	0
		7	95	0
		8	90	5
Vyplozená štěpka	klanolístka	9	80	5
		10	90	0
		11	95	0
		12	80	10

	hlíva	13	85	5
		14	90	0
		15	90	0
		16	90	0

5.2. Měření plochy zárodků plodnic klanolístky obecné

štěpka	sklenice	plocha zárodků (%)
čerstvá	1	2,4
	2	5,7
	3	2,6
	4	3,8
vyplozená	1	5,6
	2	3,1
	3	5,6
	4	6

5.3 Vzájemný vztah mycelií

5.3.1 Pokus č. 5

Klanolístka obecná v obou variantách prorůstala substrát rychleji a opět tvořila zárodky plodnic. V zóně, kde se houby navzájem dotýkaly, se mycelia obou hub začala zhušťovat z důvodu vzájemné konkurence o substrát. V průběhu dalších dnů hlíva klanolístku obrůstala (viz. fotografie č. 9).

6 Diskuse

V rámci pokusů byla zkoumána schopnost klanolisty obecné a hlívy ústřičné kolonizovat jabloňovou a slivoňovou štěpku ošetřenou tepelně-sterilizací, chemicky-Empigenem a fermentací. Kolonizace byla těmito způsoby ošetření průkazně ovlivněna. Dále byla sledována rychlost prorůstání těchto hub na vyplozené štěpce hlívu. V posledním pokusu byla pozorována klanolístka a hlíva, které rostly proti sobě.

Při sterilizaci se musí dosáhnout teploty 110-115 °C, při níž se zničí jak vegetativní (aktivní mycelium), tak i klidová stádia (spory konkurenčních hub) (Jablonský a Šašek, 2006) V našich pokusech byla sterilizace prováděna po dobu 2 hodin při 121 °C v autoklávu. V pokusu č. 1 bylo dokázáno, že na takto ošetřeném substrátu se konkurenční houby vyskytovaly minimálně a pěstované houby rychle prorůstaly substrát.

Pokusy č. 2 a 3 byly založeny a kultivovány v letních měsících, kdy teplota v laboratoři dosahovala až 28 °C. Jablonský a Šašek (2006) uvádějí, že mycelium hlívy dosahuje při teplotě 28 °C maximálního růstu a při 20 °C je růst mycelia zpomalený. Pokusy kultivovány v laboratoři pokusného pole ČZU v Troji by mohly mít výhodu oproti pokusům, kdy byly houby kultivovány ve sklepě FAPPZ při teplotě 22 °C. Toto tvrzení, se v našem případě nepotvrdilo v pokusu č. 3, kdy růst hub probíhal pomaleji než u dalších pokusů kultivovaných při nižší teplotě, což bylo nejspíše ovlivněno typem ošetření substrátu fermentací. Hlíva ústřičná při teplotě 28 °C prorůstala rychleji než klanolístka obecná. V literatuře o klanolístce nejsou uvedeny optimální teploty růstu, z našich pokusů můžeme usoudit, že růstu mycelia klanolístky obecné vyhovuje spíše nižší teplota okolo 22 °C. Ani v pokusu č. 2, kdy byl substrát ošetřen chemicky, nemůžeme posoudit vliv teploty, růst mycelií nebyl tak rychlý jako na sterilizovaných substrátech na FAPPZ, z důvodu vysokého výskytu plísní. Vliv teploty nemůžeme tedy jednoznačně potvrdit.

Jablonský a Šašek (2006) při přípravě substrátu namáčeli slámu 24 hodin, tato doba máčení se při použití teplé vody zkracuje. Sláma připravená k tepelnému ošetření by měla obsahovat 70-76% vody. Dále uvádějí, že substrát je třeba namočit tak, aby nebyl příliš přemokřený (osidlují ho bakterie), ani příliš suchý (vyhovuje spíše růstu zelených plísní). V našem případě byla jako substrát použita štěpka z ovocných stromů, která byla namáčena též 24 hodin. Štěpka saje vodu pomaleji než sláma, z tohoto důvodu byla zaleta horkou vodou. I

přes to, vlhkost substrátů po odkapání dosahovala okolo 60%, což mohlo vést k rozvoji zelených plísní.

Kozdera (2014) ve svých pokusech s jabloňovou štěpkou pro kultivaci hlívy ústříčné měl nejlepší výsledky s ošetřením Tenzidem Empigen v koncentraci 0,16%, 0,08% a 0,04% a také Pšeničná (2013) v pokusech s révím dosáhla dobrých výsledků s ošetřením Empigenem 0,16%, 0,02% a 0,01%. Na základě těchto výsledků byla v pokusu č. 2 zvolena koncentrace Empigenu 0,16% pro ošetření štěpky. Na takto ošetřené štěpce prorůstala klanolístka obecná velmi pomalu a hlíva ústříčná minimálně. Kontaminace plísněmi byla na vysoké úrovni.

7 Závěr

-Jabloňová i slivoňová štěpka se osvědčila jako vhodný substrát pro kultivaci dřevokazných hub. Tento způsob využití ořezaných větví ze sadů, můžeme doporučit pro následné zpracování a pěstování hub.

-Tepelná sterilizace substrátu se jeví jako nejlepší ze způsobů ošetření štěpky použitých v této práci. Houby tento substrát prorůstaly rychle, plísně se téměř nevyskytovaly.

-Chemické ošetření substrátu Tenzidem Empigenem v koncentraci 0,16% se v našem případě ukázalo jako nevhodné.

-Fermentace štěpky se osvědčila jako vhodný způsob pro následnou kultivaci dřevokazných hub. Během prorůstání si houby udržovaly dobrý růst a na takto ošetřeném substrátu se objevovaly konkurenční plísně jen minimálně. Nevýhoda tohoto způsobu je vyšší délka přípravy a s tím spojená vyšší náročnost na energii při použití termostatu.

-Možnost využití vyplozené štěpky hlívou pro kultivaci klanolístky byla potvrzena. Tento substrát klanolístka rychle kolonizovala a tím i potlačovala konkurenční plísně, které se vyskytovaly v malé míře díky tepelnému ošetření štěpky.

-Při kultivaci klanolístky obecné a hlívy ústřičné na stejném substrátu, kdy byly naočkovány proti sobě se v místě dotyku mycelia zahušťovala v důsledku konkurence obou hub o substrát. Hlíva později začala klanolístku obrůstat, to svědčí o vyšší konkurenční schopnosti hlívy.

8 Seznam použité literatury

Knudsen, H., Vesterholt, J. 2008. Funga Nordica, Nordsvamp, 965 s. ISBN: 8798396137

Jablonský, I., Šašek, V. 2006. Jedlé a léčivé houby – pěstování a využití

Nakladatelství Brázda, Praha, 264 s. ISBN: 80-209-0341-0

Balabán, K., Kotlaba, F., 1970. Atlas dřevokazných hub, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 133 s. ISBN:

Kalina, T., Váňa, J. 2005. Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Karolinum, Praha, 606 s. ISBN: 978-80-246-1036-8.

Stamets, P., Chilton, J.S. 1983. The mushroom cultivator: A practical guide to growing mushrooms at home. USA. 242 s. ISBN- 10: 0961079800.

Kumhála, F., Heřmánek, P., Mašek, J., Kvíz, Z., Honzík, I. 2007. Zemědělská technika: stroje a technologie pro rostlinou výrobu. Česká zemědělská univerzita. Praha. Vydání 1. 438 s. ISBN 978-80-213-1701-7.

Stamets, P. 2000. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Ten speed.Press, California, 574 p. ISBN: 0-89815-608-4

Okamura-matsui, T., Takemura, K., Sera, M., Takeno, T., Fukuda, S., Ohsugi, M. 2001. Characteristics of a Cheese-Like Food Produced by Fermentation of the Mushroom *Schizophyllum commune*. Journal of Bioscience and Bioengineering 92(1):30-32, Japan

Reyes, R.G., Abella, E.A., Gisala, J.A., Bulseco, M.G., Gatdula, G.G. 2004.

Biology and cultivation of *Schizophyllum commune*, a newly cultivated Philippine edible

mushroom with nutraceutical potential. *Philippine Journal of Crop Science*. v. 29(Supplement no. 1) p. 86, Philippines

Teoh, Y.P., Don, M.M. 2012. Optimization of Parameters for Mycelia Growth by *Schizophyllum commune* and a Kinetic Model Study of its Growth Morphology. *Journal of Applied Sciences* 12(11):1100-1105, Malaysia

Renganathan, S., Miranda, L.R., Velan, M., Thilagaraj, W.R., Gautam, P. 2006. Accumulation of AcidOrange7, AcidRed18 and ReactiveBlack5 by growing *Schizophyllum commune*. Vol. 97, Issue 16, Pages 2189–2193, India

Smirnou, D., Krčmář, M., Procházková, E. 2011. Chitin-Glucan Complex Production by *Schizophyllum commune* Submerged Cultivation. *Polish Journal of Microbiology*, 2011, 60(3):p223-228, Poland

Sutivisedsak, N., Leathers, T., Bischoff, K., Nunnally, M., Peterson, S. 2012. Novel sources of beta-glucanase for the enzymatic degradation of schizophyllan. *Enzyme and microbial technology*; 52 3, p203-210, 8p, USA

Klaus, A., Kozarski, M., Niksic, M., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Van Griensven, L.J.L.D. 2011. Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharides extracted from the basidiomycete *Schizophyllum commune*. *LWT - Food Science and Technology*, 44(10):2005-2011, Belgrade

Chiu, S.C., Tzean, S.S. 1995. Glucanolytic enzyme production by *Schizophyllum commune* Fr. during mycoparasitism. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, Vol. 46, Issue 2, , Pages 83–94, China

Van Wetter, M.-A., Wösten, H.A.B., Sietsma, J.H., Wessels, J.G.H. 2001. Hydrophobin Gene Expression Affects Hyphal Wall Composition in *Schizophyllum commune*. *Fungal Genetics and Biology*, 31(2):99-104, Netherlands

Raudaskoski, M., Yli-Mattila, T. 1985. Capacity for Photoinduced Fruiting in a Dikaryon of *Schizophyllum commune*. *Transactions of the British Mycological Society*. v. 85 (pt.1) UK

Banerjee, G. , Robertson, D., Leonard, T. 2008. Hydrophobins Sc3 and Sc4 gene expression in mounds, fruiting bodies and vegetative hyphae of *Schizophyllum commune*. *Fungal Genet Biology*; Vol. 45(3), p.171-179. USA

Hobbs, Ch., 2005. The Chemistry, Nutritional Value, Immunopharmacology, and Safety of the Traditional Food of Medicinal Split-Gill Fungus *Schizophyllum commune* Fr.:Fr. (Schizophyllaceae). A Literature Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. Vol. 7,p. 127-140. USA

Niederpruem, D. 1963. Role of Carbon Dioxide in the Control of Fruiting of *Schizophyllum commune*. *Journal Of Bacteriology*; Vol. 85, p. 1300-8. USA

Fowler, T. J., Mitton, M. F., Rees, E. I., Raper, C. A. 2004. Crossing the boundary between the B α and B β mating-type loci in *Schizophyllum commune*. *Fungal Genetics and Biology* Vol. 41(1): p. 89-101, USA

Ruiters, M.H.J., Sietsma, J.H., Wessels, J.G.H. 1988. Expression of dikaryon-specific mRNAs of *Schizophyllum commune* in relation to incompatibility genes, light, and fruiting. *Experimental Mycology* Vol. 12, Issue 1, Pages 60–69, Netherlands

Leonard, T. J., Dick, S. 1968. Chemical induction of haploid fruiting Bodies in *Schizophyllum commune*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 59, Issue 3, p. 745-751, USA

Perkins, J. H., Gordon, S. A. 1969. Morphogenesis in *Schizophyllum commune*. II. Effects of Monochromatic Light. *Plant Physiology*, Vol. 44, Issue 12, p. 1712-171.

Janitor, A., Lacok, P. 1977. Physiology and pathogenicity of the fungus *Schizophyllum commune* Fr. fruit trees. *Slovenska Botanicka Spolocnost pri Slovenskej Akademii Vied: Slovenska Akademia Vied*, 1977. p. 272-275, Bratislava
Československo

Cooke, W.B. 1961. The genus *Schizophyllum*. *Mycologia*, Vol. 53, Issue 6, p. 575-599, USA

Ujor, V. C., Monti, M., Peiris, D. G., Clements, M. O., Hedger, J. N. 2012. The mycelial response of the white-rot fungus, *Schizophyllum commune* to the biocontrol agent, *Trichoderma viride*. Fungal Biology, vol. 116(2), p.332-341, UK

Voelz, H., Niederpruem, D.J. 1964. Fine structure of Basidiospores of *Schizophyllum commune*. Journal Of Bacteriology; Vol. 88, pp. 1497-502. USA

Raper, J. R., Krongelb, G. S. 1958. Genetic and Environmental Aspects of Fruiting in *Schizophyllum commune* Fr. Mycologia, Vol. 50, Issue 5, p. 707-740, USA

Šmidrkal, J. 1999. Tenzidy a detergenty dnes. Chem.Listy93,421-427, Praha

Internetové odkazy

<http://www.alohaculturebank.com/SchizophyllumcommuneAM1.html#.VP1iu45byeE>

<https://www.contipro.com/Antiage/Library/Schizophyllan/Schizophyllan-product-list>

<http://drevo.celyden.cz/slozeni-vlastnosti-dreva/chemicke-slozeni-dreva/>

<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/drevni-stepka-zelena-hneda-bila>

Zdroje obrázků

Schizophyllan <http://jkglobal88.tradekorea.com/product/detail/P306633/Korea-Cosmetic-Raw-Material-Beta-Glucan--Glucan-REAL-.html?minisiteprodgroupno=36508>

Palmer, G.E., Horton, J.S. 2006. Mushrooms by magic: making connections between signal transduction and fruiting body development in the basidiomycete fungus *Schizophyllum commune*. FEMS Microbiol Lett. 2006 Sep;262(1):1-8.

9. Seznam příloh

Příloha č. 1 Tabulky výsledků	A
Pokus č. 1.....	A
Pokus č. 2.....	C
Pokus č. 3.....	E
Pokus č. 4.....	F
Příloha č. 2 Fotodokumentace	H
Pokus č. 1.....	H
Pokus č. 2.....	J
Pokus č. 4.....	K
Pokus č. 5.....	L

Přílohy

1. Tabulky výsledků

1.1 Pokus č.1

Jabloňová štěpka-sterilizace															
č.	1. měření (7. den), osa č.					2. měření (13.den), osa č.					3. měření (19.den), osa č.				
	1.	2.	3.	4.	průměr	1.	2.	3.	4.	průměr	1.	2.	3.	4.	průměr
<i>Schizophyllum comune</i>															
1	6	6	3	5,5	5,13	8	10	11	10,5	9,9	14	14	14	14	14
2	4	6,3	6,2	5,8	5,6	4,5	11	11,3	10	9,2	14	14	14	14	14
3	5,9	6,5	6,9	3,9	6	11,5	12,5	12	9,8	11,45	14	14	14	14	14
<i>Pleurotus ostreatus</i>															
4	0	2,7	4	2,2	2,23	0	2,7	4	2,2	2,23	0	0	0	0	0
5	4,2	3	5	2,9	3,8	7,8	6,5	5	6,6	6,5	11,5	11	8,5	10	10,25
6	3,2	3,5	3,4	3,2	3,3	7,1	7,8	8	6,9	7,45	14	14	14	14	14
Jabloňová štěpka voda															
<i>Schizophyllum comune</i>															
7	6,2	5,5	5,7	5,8	5,8	8,7	9,8	8,7	9,4	9,15	8,7	9,8	8,7	9,4	9,15
8	3,7	3,5	3	4,5	3,7	6,8	3,5	5,7	4,5	5,1	6,8	3,5	5,7	4,5	5,1
9	5,4	4,5	4	5	4,7	7,7	6,8	6,7	8,3	7,4	7,8	10,5	9,5	10,5	9,6
<i>Pleurotus ostreatus</i>															
10	3	6	5,2	5,5	4,9	3	6	5,2	6,2	5,1	0	0	0	0	0
11	6,4	6,5	6,7	5,6	6,3	10,3	12,4	11	11,6	11,3	14	14	14	14	14
12	4,7	6	5,5	5,7	5,5	10,8	11,4	10,8	10	10,8	12	12	10,5	11,5	11,5

Slivoňová štěpka																	
sterilizace																	
č.	1. měření (7.den), osa č.					průměr	2. měření (13.den), osa č.					průměr	3. měření (19.den)				
	1.	2.	3.	4.	1.		2.	3.	4.	1.	2.		3.	4.	průměr		
schizophyllum comune																	
13	5,8	4,2	4,6	6	5,2	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14		
14	5,3	5,8	5,7	5,5	5,6	10	11,2	10,2	9,5	10,2	14	14	14	14	14		
Pleurotus ostreatus																	
15	3,6	3,9	4,3	3,1	3,7	7,9	9,5	10	7,5	8,8	14	14	14	14	14		
16	3,2	3,2	3	4	3,4	7,8	6,5	6,7	8,3	7,3	10	12	10	12	11		
17	3,3	3	3,4	3	3,2	6,7	7	6,7	6,3	6,7	14	14	14	14	14		
Slivoňová štěpka																	
voda																	
schizophyllum comune																	
18	0	5	9,5	10	6,13	0	5	9,5	10	6,13	0	0	0	0	0		
19	2,3	1,2	0,7	2	1,55	3,8	1,2	0,7	2	1,9	0	0	0	0	0		
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Pleurotus ostreatus																	
21	4,2	4,2	6	5,5	5	9,5	8,4	11,7	10,5	10	14	14	14	14	14		
22	5,5	4,7	4	5,7	5	10,5	9,2	8,7	10,2	9,7	14	14	14	14	14		
23	4,8	3,6	4	2,8	3,8	9,5	9,4	9,2	9,5	9,4	14	14	14	14	14		

1.2 Pokus č.2

Jabloňová štěpka-empigen															
č.	1. měření (6.den), osa č.					2. měření (14. den), osa č.					3. měření (22.den), osa č.				
	1.	2.	3.	4.	průměr	1.	2.	3.	4.	průměr	1.	2.	3.	4.	průměr
<i>Schizophyllum comune</i>															
1	0	0	0	0	0	5	4,9	1,5	5	4,1	7	6,8	5,8	6,5	6,5
2	0	0	0	0	0	5,7	5	4,5	4,5	4,9	5,7	5	4,5	6,5	5,5
3	1,7	0,8	1,2	1,5	1,3	5,5	6,5	5,7	5,5	5,8	7,2	9,2	7,5	7	7,7
<i>Pleurotus ostreatus</i>															
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jabloňová štěpka - voda															
<i>Schizophyllum comune</i>															
7	1,5	2	1	2	1,6	6,5	7	6,5	6	6,5	11	9,5	10,5	8,5	9,9
8	2	7	2	2	3,25	6,5	6	6,5	6	6,25	7,2	9	10,5	10	9,18
9	1,5	0,8	1	0,2	0,88	5,5	6,8	6	0,2	4,63	10,2	10,5	9,2	4	8,48
<i>Pleurotus ostreatus</i>															
10	1,7	2,5	1,5	2,2	1,98	10	9,5	9,5	9,2	9,6	12	12	12	12	12
11	1,5	3	3	3	2,6	9,5	9,5	11	10	10	12	12	12	12	12
12	0	1,5	1,2	2,2	1,2	3,5	9	7,5	8,5	7,13	3,5	12	12	12	9,9

Slivoňová štěpka

empigen

č.	1. měření				průměr	2. měření					průměr	3. měření				
	1.	2.	3.	4.		1.	2.	3.	4.	1.osa		2.osa	3.osa	4.osa	průměr	
<i>Schizophyllum commune</i>																
13	0	0	0	0	0	2	2	1	2	1,75	2	2	1	2	1,75	
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
15	0	0	0	0	0	2	1,5	1,5	2	1,75	3	3	1,5	2	2,38	
<i>Pleurotus ostreatus</i>																
16	0	0	0	0	0	2	2,5	1,8	2,3	2,15	2	2,5	1,8	2,3	2,15	
17	0	0	0	0	0	1,8	1,5	2	1,8	1,78	1,8	1,5	2	1,8	1,78	
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Slivoňová štěpka

voda

<i>Schizophyllum comune</i>															
19	0	0	0	0	0	1	3,8	3,8	4	3,15	2	4,2	6	5,5	4,4
20	0	0	0	0	0	1	3,8	3,8	3,5	2,8	2	4,2	6	3,5	3,9
21	0	0	0	0	0	2,5	3,8	3,8	1,8	2,9	3,5	4,2	6	1,8	3,9
<i>Pleurotus ostreatus</i>															
22	0	0	0	0	0	7,5	6,5	8	5,5	6,9	12	12	12	12	12
23	0,2	0,8	1	1,2	0,8	8,5	7,8	8	7,5	7,95	12	12	12	12	12
24	0	0	0	0	0	3,5	4,5	2	4	3,5	3,5	4,5	2	5,5	3,9

1.3 Pokus č. 3

Hlíva ústříčná

č.	1. měření 3.12 (7. den)					průměr	2. měření 10.12 (14. den)					průměr	3. měření 15.12 (20. den)				průměr
1	3,7	4	3,5	3,5	3,7	9	8,2	8,5	9	8,7	13	12,2	12,5	13	12,7		
2	4	5	4,3	3,9	4,3	9	9,5	9,5	8,5	9,1	13	13,5	13,5	12,5	13,1		
3	4,5	4	3,6	3,7	4	8,5	8,7	8,7	9	8,7	12,5	12,7	12,7	13	12,7		
4	5,3	5	4,7	4,7	5	10,5	10	9,5	10	10	14	14	14	14	14		
5	3,5	3	4,2	4	3,7	7,5	8	10	9,2	8,7	11,5	12	14	13,2	12,7		
6	3,5	4	4,5	4,3	4	9,5	9,5	9,5	10	9,6	13,5	13,5	13,5	14	13,6		
7	3,5	3	3	3	3,1	9	8	7,7	8,8	8,4	13	12	11,7	12,8	12,4		
8	7,3	5,5	4,2	4,7	5,4	10	9,5	9,5	10	9,8	14	13,5	13,5	14	13,8		
9	4,5	4,2	4,5	4,4	4,4	9,8	8,5	9	10	9,3	13,8	12,5	13	14	13,3		
10	3,7	4,5	4,3	3,7	4	9	8,8	9	9	9	13	12,8	13	13	13		

Klanolístka obecná

	1. měření 3.12 (7.den)					průměr	2. měření 10.12(14.den)					průměr	3. měření 15.12(20.den)				průměr
11	2	2	2	2	2	5	6	5	4,3	5	9	9,5	9	9	9,1		
12	1	1,8	2,8	2,5	8,1	2,5	2,8	3	4,2	3	6	9,2	7,7	9,2	8		
13	2,2	1,7	1,5	2,2	1,9	5,2	3,3	3	4,5	4	9	9,5	8	9,5	9		
14	2	2	2	2	2	4	5,5	3	3	3,9	10,5	9,5	9	11	10		
15	2	2,5	2	2,2	2,2	4	4,3	3,5	4,7	4,1	11,2	10,5	10,5	10,5	10,7		
16	2,5	2,8	1,5	1,7	2,1	4	3,4	4	3	3,6	9,5	12	9,5	9,5	10,1		
17	2,2	2,8	2,8	2,5	2,6	5,6	5,7	5	5,7	5,5	8,6	10,3	10,1	9,6	9,7		
18	1,5	1,5	2,5	1	1,6	3	2,5	4,5	2,2	3	9,7	10,7	9,5	9,5	9,9		
19	1,7	1,8	1,8	1	1,6	2,7	3,8	3,5	3,5	3,4	9,5	9	9	10	9,4		
20	2,2	2	2	2,3	2,1	4	3,5	3,5	4,5	3,9	9,3	8,4	8,4	8,2	8,6		

1.4 Pokus č.4

Čerstvá štěpka klanolístka obecná

	1.měření (7. den)				průměr	2.měření (14.den)				průměr	3.měření (18.den)				průměr
1	4	5	4	5	4,5	10	9,5	10	11,5	10,25	13	13	13	13	13
2	3,5	3,5	4	4	3,75	9,5	10	10	10	9,88	14	14	14	14	14
3	3,5	3,5	4	4	3,75	9	10	9	10,5	9,6	12	13	12	13,5	12,6
4	3	4,3	4	3,5	3,7	10	10,2	9,5	10	9,9	14	14	14	14	14

Vyplozená štěpka klanolístka obecná

	1.měření (7. den)				průměr	2.měření (14.den)				průměr	3.měření (18.den)				průměr
1	4	4,5	5	5	4,9	10	10	10,5	11	10,4	14	14	14	14	14
2	4,5	4,5	4,5	4	4,4	10,5	10,5	10	10	10,25	14	14	14	14	14
3	4	4,5	4,5	4,5	4,4	10	10,5	11	10,5	10,5	14	14	14	14	14
4	4,5	4	4	4	4,1	10,5	10	10	10,5	10,25	14	14	14	14	14

Čerstvá štěpka hlíva ústřičná

	1.měření (7.den)				prům.	2měření (14.den)				prům.	3.měření (18.den)				prům.
1	4,2	4	4,2	4,3	4,2	9	9,2	9,5	9,5	9,3	13,8	13,6	14	13,6	13,7
2	4	3,8	3,8	3,5	3,7	9	8,8	8,5	8,8	8,8	13	13	13	13	13
3	4	4	4,3	4,2	4,1	8,7	9	9	8,7	8,9	14	13,4	13,8	13,9	13,8
4	4	4,3	4,2	4	4,1	8,8	9,6	9,2	9	9,2	12,8	13,8	13,6	13	13,3

Vyplozená štěpka hlíva ústřičná

	1.měření (7.den)				prů měř	2.měření (14.den)				prů měř	3.měření (18.den)				průměr
1	4	4,5	4	3,8	4	7	9	8,7	8,3	8,3	11,8	13,8	12,5	13,5	12,9
2	3,5	4,7	4, 5	4,5	4,3	11	10,5	10,5	10,5	10,6	14	13,5	13,3	13,5	13,6
3	4,3	5,8	4, 3	4	4,6	9	10,5	9,5	10	9,8	13,2	14	13,2	13	13,4
4	4,3	4	3, 5	5	4,2	10,5	10	10	10,5	10,3	13,5	13,5	12,5	13,5	13,3

Čerstvá štěpka – <i>Schizophyllum commune</i>				zárodky	Vyplozená štěpka- <i>Schizophyllum commune</i>				zárodky
20	14	16	15	iii	15	12	12	13	i
16	14	11	13	ii	18	12	15	13	ii
Čerstvá štěpka – <i>Pleurotus ostreatus</i>					Vyplozená štěpka -. <i>Pleutorus ostreatus</i>				
13	13	11	12		11	11	12	11	
9	15	13	14		10	12	8	12	

Množství zárodků: iii nejvíce, i nejméně

2. Fotodokumentace

2.1 Pokus číslo 1

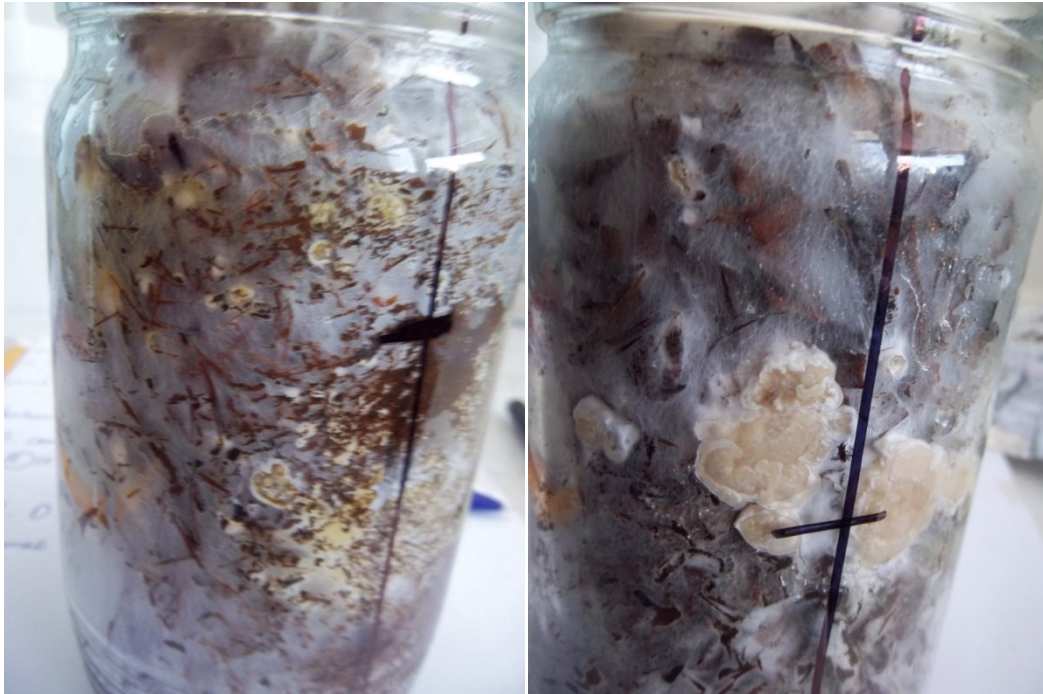


Foto č. 1 Mycelium klanolístky obecné se zárodky plodnic na sterilizované jabloňové (vlevo) a slivoňové štěpce (vpravo)



Foto č. 2 Prorůstání sterilizované jabloňové štěpky myceliem hlívy ústříčné



Foto č. 3 Kontaminace zelenou plísní na namočené jabloňové štěpce

2.2 Pokus č. 2



Foto č. 4 Mycelium hlívy ústříčné (vlevo) a klanolístky obecné (vpravo) rostoucí na namočené jabloňové štěpce



Foto č. 5 Kontaminace plísní na chemicky ošetřené štěpce

2.4 pokus číslo 4



Foto č. 6 Porovnání růstu na čerstvé a vyplozené štěpce



Foto č. 7 Zárodky plodnic klanolístky obecné na vyplozené štěpce

2.5 Pokus číslo 5



Foto č. 8 Porovnání růstu mycelií na vyplozené a čerstvé štěpce



Foto č. 9 Mycelium hlívy přerůstá mycelium klanolístky