

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ochrany lesa a myslivosti



**Odolnost kmenů hlívy ústříčné a hlívy plicní vůči
Trichoderma pleurotum.**

Diplomová práce

**Jan Reich
vedoucí práce: RNDr. David Novotný Ph.d.**

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že diplomovou práci na téma Odolnost kmenů *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus pulmonarius* vůči *Trichoderma pleurotum* jsem vypracoval samostatně pod odborným vedením RNDr. Davida Novotného Ph.D. a použil jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů. Jsem si vědom, že zveřejněním diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Praze dne 18. 4. 2015

Jan Reich

Poděkování

Především děkuji panu RNDr. Davidu Novotnému Ph.D. za odborné vedení práce, jeho týmu za pomoc v laboratoři, a svým blízkým za trpělivost a podporu.

Souhrn

Tato práce se zabývá odolností, hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*), a hlívy plicní *Pleurotus pulmonarius* vůči *Trichoderma pleurotum*, způsobující vážné škody při pěstování uvedených druhů hlív. První část práce tvoří literární rešerše, pojednávající o jejich morfologii, ekologii, pěstování a využití, představuje i další léčivé autochtoní houby pěstované na dřevní hmotě. Výzkumná část se zabývá popisem a metodikou provedených pokusů, jejich výsledky a potvrzením či vyvrácením stanovených hypotéz, které jsou dále komentovány v diskuzi. Celkem bylo provedeno šest pokusů, zaměřených na vliv různých podmínek prostředí na růst a životaschopnost *Trichoderma pleurotum* zjišťováním ideálního kultivačního média, vlivu různých světelných režimů, působení ozonu a teploty na vitalitu a růst patogenu. V práci jsou také zhodnoceny vzájemné interakce mezi kmeny *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus pulmonarius* a *Trichoderma pleurotum* na různém pěstebním substrátu.

Klíčová slova: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonaris*, *Trichoderma pleurotum*, pěstování hub, ochrana hub

Abstract

This work concerns the resistance of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* to *Trichoderma pleurotum*, causing serious loss on mentioned cultivated Oyster mushroom species. First part of the thesis comprise of literature survey, concerning the fungal morphology, ecology, growing and use and introduces also other indigenous mushrooms cultivated on woody matter. Experimental part is focused on description and methodology of performed experiments, their results and confirmation or disprove of given hypotheses, which are further on commented in the discussion. In total were performed 6 experiments, which investigated the influence of different environmental conditions on *Trichoderma pleurotum* growth and vitality by determining its ideal cultivation medium, exposure to different light regimes, several ozone and temperature levels, and also comparison of mutual interactions between *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* strains and *Trichoderma pleurotum* on different substrates.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonaris*, *Trichoderma pleurotum*, mushroom production

1. Úvod.....	10
2. Cíl.....	11
3. Literární rešerše	12
3.1. Pěstování hub.....	12
3.1.1. Historie pěstování hub	12
3.1.2. Využití pěstovaných hub	14
3.1.3. Pěstované houby v České republice.....	15
3.1.4. Léčivé pěstované houby rostoucí na dřevu, autochtonní	16
3.1.4.1. <i>Auricularia auricularia-judae</i> (Bull.) Wettst. - Bolcovitka ucho jidášovo	16
3.1.4.2. (<i>Flammulina velutipes</i>) (Curtis) Singer - Penízovka sametonohá	17
3.1.4.3. <i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst. - Lesklokorka lesklá.	17
3.1.4.4. <i>Grifola frondosa</i> (J. Dicks.) Gray - Trsnatec lupenitý	18
3.1.4.5. <i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers - Korálovec ježatý.	19
3.2. Pěstování hlívy	19
3.2.1. Rod <i>Pleurotus</i> (Jacq.:Fr.) P. Kumm	19
3.2.1.1. <i>Pleurotus ostreatus</i> - hlíva ústříčná (Jacq. Ex Fr.) Kum	20
3.2.1.2. <i>Pleurotus Pulmonarius</i> - Hlíva plicní	22
3.2.2. Historie Pěstování hlívy	23
3.2.3. Fyziologické požadavky hlívy	23
3.2.3.1. Vliv teploty	24
3.2.3.2. Vliv pH	24
3.2.3.3. Vliv světla	24
3.2.3.4. Vliv oxidu uhličitého	25
3.2.4. Příprava substrátu	25
3.2.5. Sadba.....	27
3.2.6. Iniciace tvorby plodnic a sklizeň.....	28
3.2.5. Choroby a škůdci hlívy:.....	29
3.3. Rod <i>Trichoderma</i> / <i>Hypocrea</i>:	29
3.3.1. <i>Trichoderma pleurotum</i> (S. H. Yu & M. S. Park)	31
3.3.3. Ochrana pěstebního substrátu substrátu	32
4. Materiál a metodika	34
4.1. Materiál.....	34
4.1.1. Příprava živných médií:	34
4.1.2. Použité kmeny hub.....	35

4.1.2.1. Kmeny <i>Pleurotus ostreatus</i>	35
4.1.2.2. Kmeny <i>Pleurotus pulmonarius</i>	36
4.1.2.3. Kmeny <i>Trichoderma pleurotum</i>	36
4.2. Metodika	37
4.2.1. Vliv Agarových médií na růst <i>Trichoderma Pleurotum</i>	37
4.2.2. Vliv různých světelných režimů na růst a vitalitu <i>Trichoderma pleurotum</i>	38
4.2.3. Vystavení <i>Trichoderma pleurotum</i> různým intenzitám ozonu (40, 60, 90%) po různě dlouhou dobu (5, 10, 20 min.) a následné vyhodnocení vitality mycelia.	38
4.2.4. Vliv expozice <i>Trichoderma pleurotum</i> různým teplotám (50, 55, 60, 65 °C), v různém časovém úseku (5, 10, 20 min.) na její životaschopnost.	39
4.5. Odolnost kmenů <i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Pleurotus Pulmmonarius</i> vůči kmenům <i>Trichoderma pleurotum</i>	40
5. Výsledky	42
5.1. Vliv Agarových médií na růst <i>Trichoderma Pleurotum</i>	42
5.2. Vliv různých světelných režimů na růst a vitalitu <i>Trichoderma pleurotum</i>	43
5.3. Vystavení <i>Trichoderma pleurotum</i> různým intenzitám ozonu (40, 60, 90%) po různě dlouhou dobu (5, 10, 20 min.) a následné vyhodnocení úmrtnosti mycelia.	45
5.4. Vliv expozice <i>Trichoderma pleurotum</i> různým teplotám (50, 55, 60, 65 °C), v různém časovém úseku (5, 10, 20 min.) na její přežívání.	45
6. Diskuze	49
7. Závěr.....	53
8. Literatura.....	55
9. Přílohy	58

Seznam tabulek, obrázků a grafů

Tab. 1 Produkce a export hub v Číně v letech 2001-2005 (v tisících tun)

Chen et al. in (ANTONÍN 2013)

Tab. 2 Přibližné složení (v %) vybraných pěstovaných hub (ANTONÍN 2013)

Tab. 3 Redukce výnosu *Pleurotus ostreatus* (kmen P80) na substrátu infikovaného *T. pleurotum* a *T. pleuroticola* (SOBIERALSKI 2007)

Tab. 4 Tab. č. 1 Redukce výnosu *Pleurotus ostreatus* (kmen P80) na substrátu infikovaného *T. pleurotum* a *T. pleuroticola* (SOBIERALSKI 2007)

Tab. 5 Průměrná velikost kolonií po třech dnech na jednotlivých mediích

Tab. 6 Odolnost jednotlivých kmenů *Trichoderma pleurotum* při expozici 60°C v různém časovém úseku na její přežívání

Graf 1 Růst kmenů *Trichoderma pleurotum* na různých živných mediích.

Graf 2 Velikost kolonií kmenů *Trichoderma pleurotum* v jednotlivých světelných režimech po třech dnech

Graf 3 Průměrná velikost kolonií kmenů *Trichoderma pleurotum* v jednotlivých režimech světla po třech dnech

Graf 4 Vliv expozice *Trichoderma pleurotum* různým teplotám v různém časovém úseku na její přežívání.

Graf 5 Omezení růstu *Trichoderma pleurotum* podle zvoleného kmene *Pleurotus ostreatus*

Graf 6 Omezení růstu *Trichoderma pleurotum* podle zvoleného kmene *Pleurotus pulmonarius*

Obr. 1 Penízovka sametonohá (ANONYMOUS)

Obr. 2 Zasněžené plodnice penízovky (ANONYMOUS)

Obr. 3 Mladé plodnice *Ganoderma lucidum* (NOVOTNÝ)

Obr. 4 Lesklokorka lesklá v přírodě (ANONYMOUS)

Obr. 5 *Hericium erinaceus* (ANONYMOUS)

Obr. 6 Hlíva ústříčná (NOVOTNÝ)

Obr. 7 *Pleurotus pulmonarius* (NOVOTNÝ)

Obr. 8 Deformace plodnic (REICH)

Obr. 9 Nevhodné nasazení mladých plodnic (REICH)

Obr. 10 Pohled do pěstírny hlívy (NOVOTNÝ)

1. Úvod

Člověka obklopují houby od nepaměti, jsou samostatnou třetí říší organismů, nezastupitelným destruentem v koloběhu přírody, nebezpečným škůdcem na zdraví i majetku, zdrojem léčivých i jedovatých látek. Od nepaměti jsou využívány především jako potravina, v léčitelství ale i v moderní historii se postupně staly objektem hlubšího vědeckého zájmu. Celá řada dnešních biotechnologií je založena právě na působení hub. Pěstování jedlých a léčivých hub představuje celosvětově významnou součást zemědělské výroby, která navíc spadá pod tzv. uzavřené technologie, kdy surovinami jsou z hlavní části obnovitelné zdroje, odpady nebo vedlejší produkty, a tak představuje zajímavý způsob obživy i z pohledu rozvojové části světa. To potvrzuje trend posledních desetiletí, kdy celosvětová produkce hub stále stoupá. V rešeršní části této práce se čtenář seznamuje s pěstováním a využitím hub a to především hlívy ústříčné, a dalších léčivých druhů. Zaměřuje se na škůdce pěstebního substrátu, představuje především tzv. zelené plísně, které mohou výnos pěstíren velmi citelně snížit. Ve speciální části jsou popsány pokusy ověřující stanovené hypotézy, zaměřené především na interakce *Trichoderma pleurotum* k pěstované hlívě ústříčné a hlívě plicní a vlivu vybraných faktorů na jmenovaný druh *Trichoderma*. Celkem bylo provedeno 6 pokusů. Získané poznatky mohou dále sloužit pro prohloubení znalostí v oblasti ochrany pěstebního substrátu a omezení ztrát z výnosů na pěstovaných hlívách.

2. Cíl

Cílem práce bylo nejprve zjistit vhodné in-vitro podmínky pro růst *Trichoderma pleurotum* porovnáním růstu kolonie na různých agarových mediích jako nejvhodnějšího kultivačního media, dále vystavení *Trichoderma pleurotum* různým teplotám, světelným režimům a intenzitám ozonu po různě dlouhou dobu pro zjištění možného ošetření substrátu používaného v pěstírnách, který byl napaden a nakonec vybrat nejodolnější kmeny hlív porovnáním vzájemných interakcí mezi jednotlivými kmeny hlívy a plísně.

3. Literární rešerše

3.1. Pěstování hub

3.1.1. Historie pěstování hub

Za prokázané je možné považovat, že pěstování rodu *Hirneola* začalo někdy v roce 600 n. l. v Číně a pěstování žampionů v západních zemích má počátky kolem roku 1600 ve Francii. Ovšem počátky intenzivní výroby jedlých hub lze datovat od poloviny minulého století. V roce 1950 bylo vyrobeno asi 76 tisíc tun hub, z toho 90% tvořily žampiony. ANTONÍN ET AL. (2013).

Jak uvádí ANTONÍN ET AL. (2013) hned od počátku byly lídrem USA, kde již od roku 1915 vznikaly 1. účelové stavby – žampionárny a od roku 1934 využívána technologie pěstování žampionů v bednách. Technologický náskok a prvenství ve výrobě hub vydržely USA do 80. let, kdy byla v Číně zavedena nenáročná technologie přípravy substrátu pro pěstování hlívy. Během 5 let stoupla světová produkce této houby ze 170 000 t na 900 000 t, z toho 800 000 t bylo vyrobeno v Číně. V roce 1991 bylo v USA vypěstováno 345 000 t plodnic, z toho asi 342 000 t žampionů. V témže roce bylo v Číně vyrobeno 2 246 000 tun hub a z toho pouze 170 000 t žampionů. Produkce hub v Číně byla více než 6 krát větší než v USA a tento trend stále stoupá. V současnosti je Čína nejen největším producentem, ale i konzumentem a exportérem hub světa. Z celkového množství hub produkovaných v umělých pěstírnách představují žampiony největší podíl (40%) následují hlívy (25%) a kukmák sklepní (16%), (SOCHA ET JEGOROV 2014).

Způsoby pěstování hub

Dnes jsou houby pěstovány velkokapacitně, **intenzivním** způsobem kdy vytváříme pro růst houby optimální podmínky. Velmi často k tomu jsou používána specializovaná zařízení – pěstírny – ve kterých můžeme regulovat teplotu, vlhkost vzduchu a půdy, intenzitu světla apod. **Extenzivní** pěstování pak probíhá v přírodních podmínkách, kde jsou výsledky závislé na průběhu a charakteru

vnějšího prostředí, např. ponechání naočkovaných klád venku pod stromy (VALÍČEK 2011).

Pěstování jedlých hub představuje celosvětově významnou součást zemědělské výroby. Při minimálních požadavcích na zemědělskou půdu, kdy vstupními surovinami jsou odpady, sekundární produkty zemědělské výroby (koňský hnůj, prasečí a kuřecí kejda, kuřecí podestýlka, sláma, odpad po pěstování bavlny, řepky, hořčice, cukrové třtiny, listy bambusu, skořápky, piliny a jiná dřevní hmota atd.) prakticky nedochází k tvorbě odpadu, protože vyplozený substrát nachází uplatnění v různých oborech zemědělské výroby (hnojivo, krmivo, sanace půd). Pěstování hub je tak příkladem tzv. uzavřené technologie kdy surovinami jsou z hlavní části obnovitelné zdroje, odpady nebo vedlejší produkty a odpad této výroby nadále slouží jako surovina (ANTONÍN ET AL. 2013).

Tab. 1 Produkce a export hub v Číně v letech 2001-2005 (v tisících tun)

Chen et al. in (ANTONÍN ET AL 2013)

Produkce a export hub v Číně v letech 2001-2005 (v tisících tun)			
rok	Produkce (čerstvých plodnic)	Export (čerstvých nebo sušených plodnic)	Hodnota exportu (v milionech USD)
2001	7801	443	472
2002	8670	382	463
2003	10390	433	622
2004	11600	582	902
2005	13346	628	964

Houby jsou pěstovány na několika typech substrátů, jak je uvádí (VALÍČEK 2011):

1. Fermentované substráty pro pěstování zástupců *Agaricus* (žampion) a *Coprinus* (hnojník).
2. Lignocelulózové substráty typické pro pěstování druhů rodu *Stropharia*, (*límcovka*), *Volvariella* (kukmák) a *Pleurotus* (hlíva).
3. Dřevní substráty pro pěstování *Ganoderma lucidum* (lesklokorka lesklá)
4. Dřevo klády špalky větve, především pro pěstování *Lentinula edodes* (houževnatec jedlý)
5. Substráty pro houby s mykorhizou, týkající se především hřibovitých hub
6. substráty

pro houby parazitující na hmyzu, například pro *Cordyceps sinensis* (housesnice čínská).

3.1.2. Využití pěstovaných hub

Názory na uplatnění hub v lidské stravě se v historii značně měnily, od jednoho extrému, že houby jsou maso lesa, až k druhému, a to že z hlediska výživy nemají žádný význam. Moderní pohled je takový, že houby nejsou potravina, nejsou tedy vhodné jako základ naší výživy, ale jsou velmi cennou pochutinou s nezaměnitelnou chutí a vůní někdy používané jako koření. (HOLEC ET AL 2012). Nutriční hodnota hub přesto nabývá na významu v zemích 3. světa díky snadnému pěstování, a v lidské historii i v době nedávných válečných konfliktů v Evropě umožnila mnoha lidem přežít období nedostatku. (REDZIC A KOL. 2012 IN SOCHA ET JEGOROV 2014).

Tab. 2 Přibližné složení (v %) vybraných pěstovaných hub (ANTONÍN 2013)

Tab. 1. Přibližné složení (v%) vybraných pěstovaných hub					
houba	voda	bílkoviny	sacharidy	lipidy	popel
žampion dvouvýtrusý	88,7	23,9	60,1	8	8
penízovka sametonohá	89,2	17,6	73,1	1,9	7,4
houževnatec jedlý	91,8	13,4	78	4,9	3,7
hlíva ústříčná	90,8	30,4	57,6	2,2	9,8
kukmák sklepní	90,1	21,2	58,6	10,1	10,1

Podle archeologických nálezů z Maglemose (mestická kultura, Høng, Dánsko, 9500-6500 př. n. l.) už pravěcí lovci používali některé druhy chorošovitých hub k léčení tak, že byly doutnající kousky chorošů přikládány na bolestivá místa. Dodnes je tento způsob využíván k prohřívání akupunkturálních bodů. (MULLER-EBENING ET AL. 1998 IN SOCHA ET JEGOROV 2014).

Houby jsou tradičně využívány v biotechnologiích. Pěstované jedlé houby představují potravinářský produkt, nižší mikroskopické houby jsou používány k výrobě vína piva nebo těsta, další druhy produkují enzymy, růstové hormony,

pesticidy, fungicidy antibiotika jiné vitaminy a barviva, organické kyseliny, růstové regulátory (VALÍČEK 2011), (ANTONÍN ET AL. 2013). Mezi 140 000 druhů kloboukatých hub je jich 2000 jedlých, z toho zhruba 700 druhů vykazuje léčivé vlastnosti (WASSER. 2011 IN SOCHA ET JEGOROV2014).

Jak uvádí (SOCHA ET JEGROV 2014) na rozdíl od Asie se zájem o léčivé využití hub v Evropě prohloubil až v 2. pol. 20. století. Ačkoli byla z hub izolována řada léčiv, samotné houby lékem nejsou a řadí se mezi tzv. potravinové doplňky.

Vyplozený substrát může být také použit jako hnojivo do zahradních a zemědělských půd, jako materiál pro dekontaminaci půd a dokonce byl úspěšně testován jako přídatek do krmiva hospodářských zvířat (ANTONÍN ET AL. 2013), (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

(ERBAN 2012) udává dostupnost veterinárních dietetických přípravků na českém trhu vyrobených z hub *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* a rakytníkového oleje jako doplněk výživy pro lesklou srst domácích zvířat.

Negativní účinky

Je třeba si uvědomit, že houby mohou mít i negativní účinek na lidské zdraví. Jsou schopny kumulovat těžké kovy, především olovo kadmium a rtuť a nepříznivě ovlivňovat zdravotní stav. U citlivějších jedinců mohou způsobovat alergie různých typů způsobené především výtrusy. Existují také druhy, které není možné kombinovat s alkoholem, například hnojník inkoustový který obsahuje látku blokuji funkci enzymu štěpícího alkohol. Samostatnou kapitolou je obsah enzymů (VALÍČEK 2011).

3.1.3. Pěstované houby v České republice

Zákonem povolené druhy hub, které je možné pěstovat v České republice, jsou uvedeny ve vyhlášce č. 291/2010 Sb. takto 1. Žampion zahradní (*Agaricus hortensis*) 2. Žampion hnědý (*Agaricus brunescens*) 3. Hlíva ústřičná (*Pleurotus ostreatus*) 4. Hlíva miskovitá (*Pleurotus cornucopiae*) 5. Hlíva plicní (*Pleurotus pulmonarius*) 6. Hlíva máčková (*Pleurotus eryngii*) 7. Límcovka obrovská žlutá (*Stropharia*

rugosoannulata) 8. Límcovka obrovská hnědá (*Stropharia rugosoannulata*) 9. Penízovka sametonohá (*Flammulina velutipes*) 10. Polnička topolová (*Agrocybe aegerita*) 11. Houževnatec jedlý - Shii-ta-ke (*Lentinus edodes*) 12. Opěnka měnlivá (*Kuehneromyces mutabilis*) 13. Kukmák sklepní (*Volvariella volvacea*) 14. Ucho Jidášovo (*Hirneola auricula judae*) 15. Šupinovka nameko (*Pholiota nameko*) 16. Líhovec moučný (*Hypsizygus tessulatus*) 17. Žampion mandlový (*Agaricus brasiliensis*) 18. Trsnatec lupenitý (*Grifola frondosa*) 19. Korálovec ježatý (*Hericium erinaceus*) 20. Žampion ovčí (*Agaricus arvensis*) 21. Hlíva citronová (*Pleurotus citrinopileatus*) 22. Hlíva růžová (*Pleurotus salmoneostramineus*)⁴. (Vyhláška č. 291/2010 Sb.).

Pěstované hoby, které uvádí (VALÍČEK 2011) jako léčivé: 1. Housenice čínská (*Cordyceps chinensis*), 2. Leklokorka lesklá, (*Ganoderma lucidum*) 3. Outkovka pestrá (*Tremastes versicolor*) 4. Rosolovka listová 5. Hnojník obecný (*Coprinus comatus*) 6. Klanolístka obecná (*Shyczophyllum commune*) 7. Rezavec šikmý (*Innonotus obliquus*) 8. Žampion dvouvýtrusý (*Agaricus Bisporus*) 9. Kotrč kadeřavý (*Sparassis crispa*) 10. Pýchavka obecná (*Lycoperdon palatum*).

3.1.4. Léčivé pěstované houby rostoucí na dřevu, autochtonní

3.1.4.1. *Auricularia auricularia-judae* (Bull.) Wettst. - Bolcovitka ucho jidášovo

Jak udává HAGARA (2005) jedlá, výskyt březen až listopad, vytváří plodnice 30-100 mm široké a 1-3 mm tlusté, zpočátku miskovité, ale brzy nepravidelné, škeblovitě nebo ve tvaru ucha a bočně přirostlé k substrátu. Většinou jsou vrásčité a velice pružné, hnědé skořicově hnědé, až červenohnědé. Roste hojně na mrtvém dřevě především bezu černého, ale i jiných listnáčů (dubů, buků, jasanů a akátů). Vzhledem k tvaru a konzistenci nelze zaměnit za žádnou jinou houbu. Staré plodnice mohou být porostlé řasami, ty už nesbíráme. (HOLEC ET AL. 2012) udává velikost výtrusů 13-20,5-7 μm, za sucha scvrklé, tvrdé po navlhčení nabývají původní tvar chuť a vůně nevýrazná. Tradiční součást čínské medicíny, příznivě ovlivňuje hladinu cholesterolu, používána též k léčbě očních neduhů hojení ran a stimulaci imunitního

systemu. Nazývána též „černá“ nebo „čínská“ houba (SOCHA ET JEGOROV 2014), (HOLEC ET AL 2012), (VALÍČEK 2011), (ANTONÍN ET AL. 2013).

3.1.4.2. (*Flammulina velutipes*) (*Curtis*) *Singer* - Penízovka sametonohá

Jak udává HAGARA (2005) jedlá, výskyt říjen až duben. Klobouk 20-60 mm velký, vyklenutý až plochý, slizký, hladký, žlutě až oranžově, uprostřed až kaštanově hnědý. Lupeny krátce připojené, bělavé až světle oranžové nažloutlé. Třeň měří 50-80 x 2-10 mm, je válcovitý, celý výrazně sametový, na vrcholu nažloutlý, na bázi tmavohnědý až hnědočerný. Roste dost hojně, většinou trsnatě na pařezech, kmenech a větvích listnáčů, zejména vrb, olší jilmů a buků vzácněji i jehličnanů. (HOLEC 2012) udává velikost výtrusů 6-9,5 x 3-4 μm , chuť a vůně příjemná. V lidovém léčitelství byla tato houba vyžívána k léčbě zánětů, dermatóz, alergie astmatu, Crohnovy choroby a k posílení imunitního systému. V tradiční čínské medicíně pak nejvíce k léčbě chorob jater a žaludečních vředů (SOCHA ET JEGOROV 2014).

Obr. 2 Penízovka sametonohá



Obr. 2 Zasněžené plodnice penízovky



3.1.4.3. *Ganoderma lucidum* (*Curtis*) *P. Karst.* - Lesklokorka lesklá.

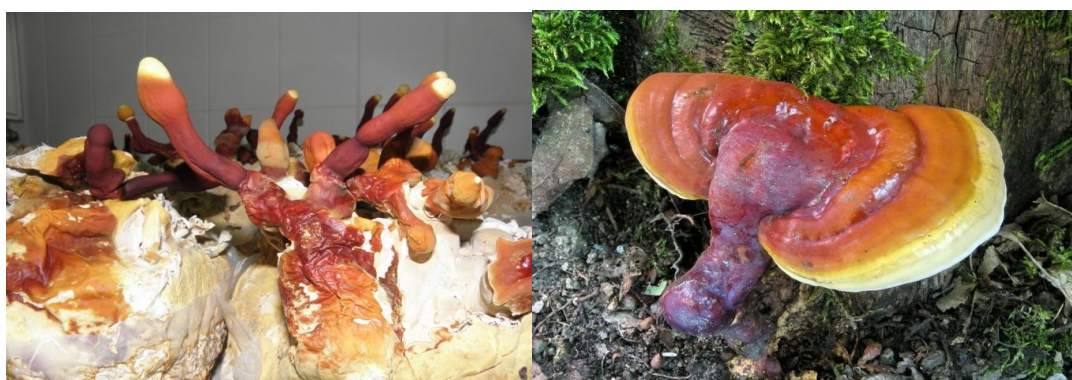
Jak udává HAGARA (2005) nejedlá, výskyt květen až říjen, klobouk 30-250 mm, kruhovitý nebo oválný, hladký, lesklý hrbolatý, v mládí šupinově žlutý, později červenohnědý až kaštanově hnědý, s tenkou kůrou na povrchu. Rourky jsou 5-30 mm dlouhé s okrovými, 0,15-0,25 mm velkými, bílými až krémovými, později hnědými póry. Třeň většinou postraní, vzácněji středový, 50-200x10-25 mm, válcovitý nebo nerovný, lesklý, tvrdý červenohnědý, tmavohnědý až purpurově červený. Roste nepříliš hojně, jednotlivě nebo ve skupinách na kořenech, pařezech a bazích

odumřelých kmenů dubů méně často i jiných listnáčů, vzácně i jehličnanů. Převážně v oblasti teplomilné květeny. Je nápadná lesklou, jakoby nalakovanou plodnicí. Velikost výtrusů udává (HOLEC ET AL. 2012) 7-11 x 6-9 μm . Výtrusný prach je světle hnědý. V čínské medicíně využívána přes 2000 let, preparáty z ní jsou dodnes používány k léčení celé řady chorob (SOCHA ET JEGOROV 2014). Známa též pod pojmem Reishi (VALÍČEK 2011).

Obr. 3 Mladé plodnice *Ganoderma Lucidum*

Obr. 4 Lesklokorka lesklá v přírodě (Marek)

(Novotný 2014)



3.1.4.4. Grifola frondosa (J. Dicks.) Gray - Trsnatec lupenitý

HAGARA (2005) uvádí výskyt srpen až říjen. Plodnice tvoří 250-500 (1000) mm široký trs složený z mnoha klínovitých až polokruhovitých, jednostranných, vláknitých, hnědošedých až sazově šedých kloboučků na bělavém, mnohonásobně větveném třeni. Póry hranaté, 0,2-0,3 mm velké, bílé, až krémové. Po otlačení neměnné, rourky 2-4 mm dlouhé, sbíhavé. Roste nepříliš hojně paraziticky na bázi živých kmenů a kořenech, pak i na pařezech listnáčů, obvykle dubů a habrů, vzácně i kaštanovníku setého, buků nebo jasanů především ve středních a nižších polohách. (HOLEC ET AL. 2012) udává velikost výtrusů 6-7 x 4-4,5 μm . Má protinádorové a imunostimulační účinky.

3.1.4.5. *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers - Korálovec ježatý.

Obr. 5 *Hericium erinaceus*



Jak uvádí (HAGARA 2005) jedlá, výskyt červenec až říjen. Plodnice kulovité až vejčité, bílé, ve stáří a při zasychání okrové bělavé až hnědavé. Na přední a spodní straně s převislými, až 40 mm dlouhými ostny. Roste vzácně paraziticky na kmenech listnáčů, zejména dubů a buků. Svým tvarem a dlouhými ostny malá možnost záměny. (HOLEC ET AL. 2012) udává velikost výtrusů 5-7 x 4-6 μm , chuť a vůně ovocná, zvláště v Asii hospodářsky významná houba. V medicíně pak využívána k léčbě různých nemocí zažívacího traktu (SOCHA ET JEGOROV 2014). V ČR je celkem známo přes 50 lokalit, z toho asi 20 z poslední doby. Zařazen v červeném seznamu hub AOPK ČR jako zranitelný druh (HOLEC ET AL. 2006).

3.2. Pěstování hlívy

3.2.1. Rod *Pleurotus* (Jacq.:Fr.) P. Kumm

Jak uvádí HROUDA (1999) rod *Pleurotus* je členěn do podrodů *Pleurotus*, *Coremiopleurotus* a *Lentodiopsis*. Tento rod je rozšířen skoro ve všech ekotopech, původem zřejmě v tropech. JABLONSKÝ ET ŠAŠEK (2006) pak hovoří přímo o kosmopolitním rodu. HOLEC ET AL. (2012) popisuje druhy rodu *Pleurotus* jako středně velké až velké, kobouk je bokem přirostlý nebo s výstředním až postraním třeněm bez vela, méně často s velem, monolitický nebo dimitický. Pokožka neobsahuje rosolovou vrstvu, tlustostěnné cystidy nepřítomny. Výtrusy hladké, bezbarvé, neamyloidní, HROUDA (1999) dodává cylindrické nebo elipsoidní. Výtrusný prach bílý, krémový až nafialovělý. Saprofité až slabí parazité na dřevě (působí bílou hnilobu) vyjímečně na velkých bylinách. Ve střední Evropě přibližně

10 druhů, nejčastější pak *Pleurotus calypratus* – hlíva dubová, *Pleurotus cornucopiae* – hlíva misková, *Pleurotus ostreatus* – hlíva ústříčná, *Pleurotus pulmonarius* hlíva plicní, *Pleurotus eryngii* - hlíva máčková. (HOLEC ET AL. 2012).

Taxonomické zařazení:

Oddělení: Basidiomycota

Podkmen: Agaricomycotia

Třída: Basidiomycetes

Podtřída: Agaricomycetidae

Řád: Agaricales

Čeleď: Pleurotaceae

Rod: *Pleurotus* (KIRK P. M. ET AL., 2008)

3.2.1.1. *Pleurotus ostreatus* - hlíva ústříčná (Jacq. Ex Fr.) Kum

Jak uvádí HAGARA (2005) jedlá, výskyt říjen až prosinec, při mírných zimách možný výskyt až do jara. Klobouk jazykovitý až vějířovitý, hladký, popelavě šedý až modrošedý, někdy s fialovým nádechem lupeny daleko sbíhavé, vysoké bílé až šedavé. Třeň pouze 10-20x10-25 mm, postranní tuhý, někdy může téměř chybět. Obr. 6 Hlíva ústříčná (NOVOTNÝ)

SOCHA ET JEGOROV (2014) uvádí že, dužnina u mladých plodnic je měkce a pružně masitá, u starších plodnic trochu tuhá, ve třeni pak velmi tuhá až korkovitě dřevnatá, bělavá neměnlivá. Svým zbarvením a pozdním výskytem nezaměnitelná s jinými druhy hlív jako je nejbližší příbuzná *Pleurotus pulmonarius*. Roste hojně v trsech nebo střešovité nad sebou na kmenech a pařezech listnáčů především buků a ořešáků, vzácněji i jehličnanů. Při mírných teplotách je zaznamenán výskyt po celou zimu od nížin do hor. Existuje několik barevných forem.



Jak udává HOLEC ET AL. (2012) chuť a vůně příjemná, velikost výtrusů 7-12 x 3-4,5 μm oproti tomu HROUDA (1999) uvádí (5,6-) 9,5-13,7 x 2,7-3,2-4,2 μm . Výtrusný prach je bílý. Výskyt skoro ve všech ekotypech, nalezena i na žebrech kostry vorvaně z britských ostrovů.

Obsahové látky

Jak uvádí (VALÍČEK 2011) čersvé plodnice hlívy obsahují asi 2,5 % bílkovin, 5 % sacharidů a pouze 0,1 -0,2 % tuku širokou škálu aminokyselin, z nichž tvoří až 55 % kyselina linoleová a 40 % kyselina olejová. V plodnicích byl zjištěn lovostatin, dále lektin a především specifický pleuran s výraznými protinádorovými účinky. Dále jsou přítomny steroly, vitaminy skupiny B, vitamin C, K a P. Specifický je obsah kyseliny listové, která podporuje růst mladých buněk, a to i v kostní dřeni. Její nedostatek způsobuje nedostatek bílých krvinek, poruchy růstů kostí a vlasů a také zánětlivé změny na pokožce v dutině ústní. Přítomen je i purinový alkaloid eritadenin, který má schopnost nastavit správnou hladinu cukru v krvi. Dále je obsažen terpen pleurotin vykazující antimikrobiální aktivitu, také betanin, histamin, adenin a ethylamin. Cenný je i obsah vlákniny tvořené hlavně chininem, který zachycuje cholesterol. Z minerálních látek je to především draslík, železo a fosfor, ze stopových prvků selen, zinek, bor a jod. Energetická hodnota ve 100 g sušiny je přibližně 1400 kJ.

Léčebné využití

Jak uvádí VALÍČEK (2011) plodnice mají výrazné protinádorové účinky, užívají se i v prevenci kardiovaskulárních chorob, ale také při artritidě a osteoporóze a vleklých zánětech. Zjištěny byly i tonifikační účinky při fyzickém a duševním vyčerpání a pozitivní vliv při procesu stárnutí. Působí dobře i při chřipce, rozedmě plic astmatu a nachlazení. Velmi dobré účinky jsou při léčbě dermatóz, vyrážkách a ekzémech, ale i hemeroidů a křečových žil. V čínském léčitelství též užívána k léčbě lumbaga (houseru) a zmírnění strnulosti šlach a končetin (SOCHA ET JEGOROV 2014).

Doporučuje se denní dávka 5-10 mg sušené houby, kterou si můžeme rozpustit v čaji nebo polévce. Jinou možností je užití 50-100 g čerstvých plodnic k posílení

imunitního systému. V poslední době se rozšířily přípravky získané řízenou extrakcí, které se užívají přímo nebo se přidávají do tablet (VALÍČEK 2011).

Možnosti využití hlívy

Velký význam má hlíva ústřičná v gastronomii kde se masité klobouky přidávají do polévek omáček, jako příloha k masu, přípravě zeleninových salátů. Lze z ní připravovat řízky nebo nepravou dršťkovou polévku. Velmi dobře se konzervuje v nálevech, ale i mléčným kvašením či uzením, lze ji i sušit. Zejména mléčné kvašení je u nás nedotčeno, i když v Asii a Rusku je hojně využíváno (VALÍČEK 2011).

Jak uvádí (ERBAN 2014) na trhu je dostupný veterinární dietetický přípravek z *Pleurotus ostreatus*, houby reishy (*Ganoderma lucidum*) a rakytníkového oleje, který byl úspěšně testován jako přídavek krmiva pro kvalitu a lesk srsti domácích zvířat.

Vyplozený pěstební substrát byl úspěšně testován jako krmivo, při 10% přídavku byl zaznamenán vyšší hmotnostní přírůst zvířat a také jejich zklidnění. (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

3.2.1.2. *Pleurotus Pulmonarius* - Hlíva plicní

Dle HAGARY (2005) jedlá, výskyt červen-říjen, podobná *Pleurotus ostreatus*,

Obr. 7 *Pleurotus pulmonarius* (NOVOTNÝ)



klobouk je však slonovitě nebo špinavě bělavý až světle žluto hnědý na okraji, stejně jako lupeny, žlutnoucí. Roste na dřevě listnáčů, nejčastěji buků a lip, (HOLEC 2012) pak udává nejčastější výskyt na buku a osice. (HROUDA 1999) zmiňuje anýzovou vůni a dobu výskytu duben až září, velikost výtrusů 6,4-12,7 x 2,7-4,8.

Výtrusný prach bílý s nepatrným fialovým nádechem (SOCHA ET JEGOROV 2014).

3.2.2. Historie Pěstování hlívy

Jak uvádí JABLONSKÝ ET ŠAŠEK (2006), lidé si dřevo napadené hlívou i jinými houbami přinášeli domů po staletí, ale produkční pěstování hlív zahájili až maďarští mykologové v 60 letech a to na špalcích topolů se sklizní 1x ročně. Časté napadení plodnic škůdci, kolísavý výnos a nedostatek topolového dřeva odradily pěstitele od tohoto způsobu. S pěstováním hlívy na slámě bylo započato v Itálii v 70 letech a záhy se rozšířilo do četných hospodářských staveb. V současnosti produkce hlívy každoročně stoupá, v roce 2000 bylo vypěstováno 1 300 000 tun a největším světovým producentem se stala Čína. K největším evropským producentům patří Itálie, Francie Maďarsko a Polsko.

V České republice byl postup pěstování hlívy vyvinut RNDr. Anastázií Ginterovou. První velkoplošná plantáž špalků naočkovaných myceliem hlívy byla vysazena v 60. letech v JZD Liptál u Vsetína. Zde byl také později poprvé použit způsob pěstování hlívy na slámě a kukuřičných větenech. V roce 1975 zahájila provoz pěstírna hlívy JZD Sokolovo Bohdalice v Kojátkách, kde Ing. Rudolf Rýzner poprvé uplatnil velkovýrobní systém plodících stěn. V 80. letech pak zahájen provoz v dalších podnicích, kde byl substrát ze slámy tepelně ošetřován a plněn do pytlů. Po roce 1989 bylo mnoho pěstíren hlívy zrušeno především z důvodu zastavení činnosti zpracovatelského průmyslu, na který byl odbyt plodnic hlívy přednostně orientován. K omezení pěstování také přispěla skutečnost nedokonalé přípravy substrátu, která způsobovala kolísavou kvalitu plodnic a výši výnosu. Zvýšený zájem o hlívu přinesly nové poznatky o léčivých vlastnostech houby i její častější využití v kulinářské gastronomii (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006), (VALÍČEK 2011).

3.2.3. Fyziologické požadavky hlívy

V přírodě roste hlíva především na mrtvém dřevě, méně často parazituje na živém. Hlívy rostou i na různých lignocelulózových odpadech jako je sláma, kukuřičná větvena, hrachovina, pazdeří nebo vojtěškové seno. Předpokladem je, aby tyto materiály byly předem tepelně ošetřeny – pasterizovány, případně sterilizovány (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

3.2.3.1. Vliv teploty

Pro klíčení spor je optimální teplota 28°C. Také mycelium všech druhů hlív dosahuje maximálního růstu při této teplotě. Při teplotě 20°C je růst zpomalený, což může kulturu hlívy znevýhodnit oproti kompetičním houbám. Růst mycelia je zcela zastaven při teplotě 5°C. Mycelium nepoškodí mráz, podhoubí vystavené teplotám pod nulou opět začíná růst při zvýšení teploty. Problémy činí zejména v letním období přehřívání substrátu v důsledku aktivity mycelia. Víme, že podhoubí odumírá při vystavení teplotám 32-35° C v závislosti na vlhkosti substrátu. V praxi to znamená, že v letním období nemá být vrstva substrátu vyšší než 35cm a do polyetylenových pytlů nedáváme více než 25-30 kg substrátu. Průměr pytlů nemá být větší než 35 cm. V průběhu tvorby plodnic, mají jednotlivé druhy svá teplotní maxima, která pokud jsou překročena, zcela znemožní nasazování plodnic. Optimum *Pleurotus ostreatus* je při teplotě 8-12°C a zcela je pozastaven při teplotě nad 15°C. Teplomilné hlívy nasazují plodnice při teplotách 20-25° C a tropické druhy ještě při teplotě 30°C. (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006),

3.2.3.2. Vliv pH

Optimální hodnota pro prorůstání podhoubí hlívy ústříčné je v rozmezí 5,5 – 6,5 pH. Růst mycelia mimo toto rozmezí bývá zpravidla pomalejší. Při přípravě substrátu je upravováno přidavkem vápence. V průběhu prorůstání mycelia se pH v substrátu mění. V povrchové vrstvě substrátu, kde se nasazují plodnice, jsou hodnoty pH podstatně nižší pH (4 – 4,5) než ve vnitřních vrstvách. (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006),

3.2.3.3. Vliv světla

Během kolonizace substrátu hlíva osvětlení nepotřebuje, během nasazování plodnic je určitá míra osvětlení nutná, přibližně 100 – 400 luxů po dobu 12 hodin za den. Při vyšší teplotě, kdy plodnice rostou rychleji, má hlíva vyšší nároky než při nízkých teplotách. Na nedostatek osvětlení reagují plodnice tvorbou protáhlého třeně a zakrslého klobouku. V úplné tmě hlíva vytváří temnostní formu připomínající tvarem květák. Osvětlení má také vliv na barevný odstín klobouku, při nižším osvětlení mají plodnice světlejší barvu. (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006),

Obr. 8. Deformace plodnic hlívy (REICH)**Obr. 9** Již u mladých plodnic (REICH)

3.2.3.4. Vliv oxidu uhličitého

v průběhu vývoje se kultura hlívy vyznačuje zcela odlišnými nároky na koncentraci oxidu uhličitého v prostředí. Během kolonizace substrátu dosahuje hlíva nejvyšší rychlosti při koncentraci 2000 – 3000 ppm oxidu uhličitého. Vysoká koncentrace potlačuje růst kompetičních hub, proto se pěstební bloky perforují jen částečně. Během růstu plodnic reagují jednotlivé kmeny na koncentraci CO_2 rozdílně. Nejcitlivější kmeny reagují již při hodnotách 800 ppm snížením výnosu. Kmeny s nejvyšší tolerancí reagují sníženým výnosem až při koncentraci CO_2 1500 ppm. Proto je nutné v průběhu nasazování plodnic intenzivně větrat (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006),

Nedodržení fyziologických požadavků vede k různým deformacím plodnic (GINTEROVÁ 1985). Obrázek č. 8 znázorňuje jednu z deformací, kdy v porovnání s normálním tvarem plodnice, došlo k protažení klobouku do nálevkovitého tvaru.

3.2.4. Příprava substrátu

základním materiálem pro intenzivní pěstování *Pleurotus ostreatus* je sláma obilovin, kukuřice nebo kukuřičná větetena, v České republice především sláma z ozimé pšenice nebo žita s přidavkem slámy ječmenné k urychlení prorůstání substrátu. Osvědčil se i přidavek hrachoviny nebo řepkové slámy. Vliv na výnos má

nejenom druh zvoleného materiálu, ale i jeho správné skladování. Vlhkost při skladování by měla být 13-15%, nevhodné jsou výkyvy teplot – v takovém materiálu je zvýšen výskyt plísní, které snižují výživovou hodnotu a konkurují pak podhoubí hlívy. Nelze je odstranit ani dokonalým termickým ošetřením. Kvalitní sláma je žlutá, sklizená za sucha nepoužitelná pak černá a šedá. K výrobě substrátu zpracovaná ideálně 3-4 měsíce po sklizni, na čerstvé podhoubí prorůstá pomalu. Obsah 0,57-0,71% dusíku je dostatečný a nevyžaduje další přísady (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

Sláma je nejprve nařezána na 2-6 cm dlouhé části, namočena a tepelně ošetřena. Jsou využívány 3 různé způsoby máčení. Ponořením do bazénů na 24 hodin do vody kdy dojde k vyplavení cukrů a ostatních látek představující živné prostředí pro jiné organismy, kropením 48-72 hodin za stálého přehazování a pro největší podniky kontinuální strojové máčení kdy je sláma vystavena vodě jen po dobu desítek sekund. Při máčení pojme 1 díl slámy 3díly vody. Dále je do substrátu přidávána sádra pro zlepšení struktury a mletý vápenec pro úpravu pH. Tyto materiály jsou přidávány v množství až 20 % z celkového podílu (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

Pro **termické ošetření** jsou využívány metody sterilizace, semisterilizace, pasterizace a řízené fermentace.

Sterilizace, kdy teplota musí dosáhnout 110-115°C při níž je ničeno jak vegetativní mycelium, tak i klidová stadia - spory konkurenčních hub. Doba působení teploty závisí na množství ošetřovaného substrátu. Jedná se o nákladnou metodu s vysokou spotřebou energie a potřeby speciálních sterilizačních nádob – autoklávů. Využívána především v asijských zemích. (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

Pasterizace probíhá v tunelech s přívodem páry. Při normálním atmosférickém tlaku zahříváme substrát na 60-70°C po dobu 24-48 hod. Při zvýšení teploty můžeme zkrátit dobu působení, ale nad 63°C dochází ke karamelizaci uvolněných cukrů, které poskytují příznivé podmínky pro rozvoj konkurenčních hub. Využívány jsou 2 metody pasterizace (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

1) „Rychlá“ metoda vystavení působení teploty 58-60°C po dobu 18 – 21 hod, na požadovanou teplotu by se měl substrát zahřát nejpozději do 5-6hod. a po dosažení

43°C prudce zchladíme na 25 °C. Celková doba procesu je 4 dny (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

2) druhá metoda je kombinace pasterizace s kondicionací. Teplota 60°C se udržuje 8-10 hod. a potom se teplota sníží na 48 – 52 °C při této metodě se podpoří rozvoj termotolerantních hub a aktinomycetů, které spotřebují rozpustné cukry a tím vytvoří substrát méně napadnutelný. Rozvojem konkurenčních hub (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

Exotermická metoda **semisterilizace** používaná v Maďarsku, kdy je slámový materiál vystaven působení suchého tepla o teplotě 105-120°C. Při dosažení teploty 100°C v celém objemu slámy je tato hodnota udržována po dobu nejméně 1 hodiny. Ihned potom je sláma smíchána s vodou. Celý proces trvá 2 – 4 hodiny (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

Výběr metody přípravy substrátu závisí na druhu a kvalitě suroviny a na technických možnostech zpracovatele.

3.2.5. Sadba

Pro intenzivní pěstování je používána zrnitá sadba narostlá na zrnech žita, pšenice nebo prosa. Použitelná sadba může být stará max. 2 týdny skladována při teplotě 2 – 4 °C. Sadba je od výrobce opatřena informací o použitém kmeni, přesném popisu jeho pěstování, optimálních podmínek tvaru plodnic případně dalších požadavcích kmene. Sadba je do substrátů míchána rovnoměrně, v poměru 2-3%. Po promíchání je substrát balen do folií, které zajišťují zvýšenou koncentraci CO₂, chrání ho před vysycháním, i před infekcí zelenými plísněmi. Po naplnění pytlů je třeba folii perforovat. Otvory jsou buď kruhového, měsíčkového nebo křížového tvaru, o průměru 8-15mm ve vzdálenosti 10-20 cm a jejich plocha činí 0,5-1,8% z celkové plochy bloků. Podhoubí prorůstá substrátem 14-17 dní při teplotě 24-28°C za častého větrání a udržení relativní vlhkosti v pěstírně 80-85% (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

3.2.6. Iniciace tvorby plodnic a sklizeň

V prorostlém substrátu nedochází k tvorbě plodnic ihned. Mycelium ještě určitou dobu zraje, což doprovází významné změny uvnitř podhoubí. Při tomto procesu je potřeba snížit teplotu vzduchu, čím je nižší tím je nasazování plodnic pomalejší. Sklízni vlhkost je 80 %, v období sklizně je hlíva citlivá na vyšší koncentrace CO₂, která nemá být vyšší než 800 ppm. Osvětlení je pro správné nasazování plodnic nutné, ideálně jedna 40W žárovka na 4 m² zavěšená min. 90cm nad substrátem při intervalech 12 hodin za den. Plodnice se objevují ve vlnách, které nejsou striktně časově oddělené. 1. vlnu plodnic sbíráme po 25-35 dnech od osázení substrátu, v závislosti na použitém kmeni a pěstebních podmínkách. Sbírány jsou vždy celé trsy s mírně podvinutým okrajem. Je možné sklízet ve dvou nebo třech vlnách. Výnos první vlny představuje často 70 % sklizně. Výnos je vyjadřován hmotností plodnic v přepočtu na procenta k hmotnosti původního substrátu a kolísá v rozmezí 15-30% (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).



Obr 3 Pohled do pěstírny hlívy
(NOVOTNÝ)

Intenzivní pěstování hlívy má oproti žampionům výhodu v nižších nárocích na technické vybavení pěstíren, příprava substrátu je jednodušší i napadení škůdci a nemocemi je nižší. Pěstitelé ale řeší významný problém. Tím je velké množství spor uvolňujících se zrajících plodnic, které vyvolává dýchací potíže i u zdravých osob. Jsou využívána různá řešení. Jedním z nich je užití respirátorů, druhé opatření spočívá v intenzivním větrání případně použití speciální helmy s ventilátorem a filtrem. Testovány byly také kmeny hlív nevytvářející spory, které se ale vyznačovaly nižším výnosem a nevhodným tvarem plodnic a k pěstování v praxi nebyly využity. V současné době jsou ověřovány bezesporé kmeny nové generace, vzniklé genovými manipulacemi, které jsou tvarem plodnic i výnosem blízké tradičním kmenům. (JABLONSKÝ ET ŠAŠEK 2006).

3.2.5. Choroby a škůdci hlívy:

Jak uvádí JABLONSKÝ ET ŠAŠEK (2006) největší nebezpečí představují kompetiční houby, zejména zelené plísně rodu *Trichoderma*, kterými se tato práce bude dále zabývat. Kromě těchto plísni je to kustřebka zední - *Plicaria muralis*, dále bakterie rodu *Pseudomonas*, které se vyskytují při zvýšené vlhkosti. V době sklizně se mohou vyskytovat mušky. Další kompetiční houby jak je uvádí SHERMA ET AL. (2007). *Arthrobotrys* sp., *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cephalosporium maspermum*, *C. acremonium*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Coprinus retirugis*, *C. sterguilinus*, *Coprinus* spp. *Cochliobolus specifer*, *Drechslerabicolor*, *Furarium moniliforme*, *f. moniliforme* var. *ferbolutinans*, *F. moniliforme* var. *subglutinans*, *F. graminearum*, *Momniella echinata*, *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus* spp., *R. stolonifer*, *Stachybotrys chartarum*, *Stilbum nanum*, *Stysanus medius*, *Sclerotium rolfsii*, *Sordaria fimicola*, *Oedocephalum globerulosum*, *O. lineatum*, *Trichothecium roseum*, *Trichurus terrophilus* and *Phialospora* sp. GINTEROVÁ (1985) dále uvádí hlenku *Stemonitis fusca*, která se do substrátu může zanést nečistotou při fermentaci, dále roztoče a chvostokoky. Nebezpečný je také *Bacillus subtilis*, který se objevuje při nedostatečné sterilizaci a rychle se rozmnoží. Při venkovním pěstování napadají plodnice především mravenci, slimáci, ale i vyšší zvěř, z ptáků pak bažanti a havrani. Byl zaznamenán nižší výskyt chorob u hlív, než u žampionů.

3.3. Rod *Trichoderma* / *Hypocrea*:

Taxonomické zařazení

Říše: Fungi (Houby)

Oddělení: Ascomycota (Vřeckovýtrusné)

Podkmen: Pezizomycotina

Třída: Sordariomycetes

Řád: Hypocreales (Masenkotvaré)

Čeleď: Hypocreaceae (Masenkovitě)

Rod: *Hypocrea* (KIRK P. M. ET AL., 2008)

Zástupci tohoto rodu jsou mikroskopické, volně, kosmopolitně i lokálně žijící organismy (KREDIC ET AL. 2010). Tento početný rod čítající více než 200 druhů, osídluje různá stanoviště, především půdu, rozkládající se mrtvé dřevo, rhizosféru nebo parazituje jiné hoby (ATANASOVA ET AL. 2014). První zmínky o rodu *Trichoderma* pochází již z 18. Století. Větší zájem o studium tohoto rodu je zaznamenáván v posledních desetiletích, především pro možnost využití v biotechnologiích např. v biologické ochraně rostlin kde působí antagonisticky na řadu fytopatogenů. THINGGAARD (1987) udává zvýšení výnosu okurek o 14 % při přidání *Trichoderma harzianum* do substrátu. V popředí zájmu je také díky vysokým ztrátám při intenzivním pěstování hub, nejenom hlív, ale i dalších druhů hub zejména žampionů (KREDIC ET AL. 2010). V tom případě se jedná především o druhy *Trichoderma viride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, (SHERMA ET AL 2007)., další jsou mykoparazité *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. aggressivum*, *T. ghanense*, *T. longibrachiatum* a *T. harzianum*, (HATVANI ET AL. 2007). Epidemie choroby známá jako zelená plíseň žampionů („aggressive green mould disease,+AGM“) způsobena rodem *Trichoderma* byla poprvé pozorována v Severním Irsku v roce 1985, a byly způsobeny ztráty převyšující 3 miliony liber. (KREDIC ET AL. 2010),

S využitím genetických molekulárních metod jsou v posledních letech stále popisovány nové druhy. Studia na molekulární úrovni potvrdily vysokou diverzitu tohoto rodu (KREDIC ET AL. 2014).

Rod *Hypocrea* tvoří stromata na povrchu substrátu. Tato stromata jsou poduškovitá až rozptýlená nebo nepravidelně ohraničená, světle barevná nebo černá, uvnitř hyalinní masitá. Askoma je ostiolátní peritheciium skoro kulovité až vejčité, zanořené ve stromatu se slabě vystupujícími ostiolárními papilami. Stěna askomat je složená z plochých protáhlých buněk. Vřečka jsou unitunikátní cylindrická, neamyloidní, 8-sporová, někdy 16-sporová. Askospory jsou dvoubuněčné, buňky zaoblené a hluboce stažené v místě septa, často dělicí se na skorokulovité buňky, hyalinní nebo zelenavé. Anamorfní stadia patří do rodů *Acremonium*, *Gliocladium*, *Trichoderma* a

Verticillium. Samuel 2006 Rod *Trichoderma* je rozdělen do pěti sekcí - *Hypocreanum*, *Longibrachiatum*, *Saturnisporum*, *Pachybasium* a *Trichoderma* (BISET IN ZADROBILOVÁ 2012).

Sekce *Trichoderma*

Kolonie rostoucí 5 - 9 cm za 4 dny při teplotě 20°C. Vzdušné mycelium obvykle omezené, vločkovité až pavučinovité, reverz kolonií čerstvých izolátů bezbarvý až žlutavý, některé druhy mají kolonie s aromatickou vůni kokosových ořechů. Tvorba konidií rozptýlená, řidčeji nebo kompaktněji nahloučená, masa konidií zpočátku bílá, později zelená až hnědá. Chlamydospory jsou přítomny. Konidiofory úzké a zahnuté s primárními větvemi, které vznikají v pravidelných intervalech a větve jsou v párech nebo v přeslenech po 3, relativně úzké, krátké málo větvené. Fialidy v přeslenech po 2 nebo 3, úzce lahvicovité až šídlovité. Konidie jednobuněčné, zelené až hnědavé, skoro kulovité až obvejčité nebo elipsoidní (BISET IN ZADROBILOVÁ 2012).

3.3.1. *Trichoderma pleurotum* (S. H. Yu & M. S. Park)

Kolonie rostoucí 52-60 mm (on PDA v 25°C po 3 dnech), tvorba konidií je řídká a práškovitá, zelenavě bílá nebo šedo zelená, stárnutím tmavne. Konidiofory pyramidálně vertikální, (typ *Gliocladium*) vrcholky konidioforů a primárních 2 - 4 větví terminálně ukončenými přesleny plných fialid. Fialidy lahvicovité většinou vznikající v přeslenech po 4 - 7 o velikosti 4,2 - 7 x 2,0 - 4,0 μm. Konidie jsou elipsoidní až obvejčité, 2,8 - 4,2 x 1,6 - 2,2 μm, hladkostěnné, světle zelené. Chlamydospory skoro kulovité až elipsoidní, hladkostěnné 5 - 10 μm (PARK ET AL. 2006).

3.3.2. *Trichoderma pleuroticola* (S. H. Yu & M. S. Park)

Kolonie rostoucí 60 – 65 mm (na PDA při 25°C po třech dnech), tvorba konidií svazčitá splývající v malé postuly tvořící široké soustředné kruhy, zpočátku zelenošedé, měnící se na šedo zelenou až tmavě zelenou. Konidiofory pyramidově

vertikální. Fialidy větvené v přeslenech (1 – 4) 5,5 - 11,0 x 2,6 - 4,0 µm velké. Konidie jednobuněčné skoro kulovité až široce elipsoidní, často zašpičatělé na bázi, hladkostěnné, světle zelené, 2,9 - 4,5 x 2,4 - 3,5 µm velké. Chlamydospory skoro kulovité, elipsoidní, 5,0 - 10,0 µm velké (PARK ET AL., 2006).

Oba druhy byly nalezeny v Evropě, Íránu, Jižní Koree, *Trichoderma pleuroticola* byla navíc objevena i v Kanadě, USA a na Novém Zélandu (KOMON-ZELAZOWSKA ET AL. 2007).

SOBIERALSKI ET AL. (2007) porovnává rezistenci a ztráty na výnosech (tab. 3,4) ze substrátu, který byl napaden *Trichoderma pleurotum* a *Trichoderma pleuroticola* podle odolnosti různých kmenů *Pleurotus spp.* (tab.č. 1). SHARMA ET AL. (2007) udává ztráty způsobené různými kompetičními houbami do 70%.

Tab 3 Redukce výnosu *Pleurotus ostreatus* (kmen P80 na substrátu infikovaného *T. pleurotum* a *T. pleuroticola* (SOBIERALSKI ET AL. 2007)

Strain+ <i>Trichoderma</i> sp. isolate	Yield reduction [%]
P80 + <i>T. pleuroticola</i> M143	84.6
P80 + <i>T. pleuroticola</i> T4/15/A	80.5
P80 + <i>T. pleuroticola</i> M142	78.5
P80 + <i>T. pleurotum</i> E139	69.7
P80 + <i>T. pleurotum</i> T12/B	64.1
P80 + <i>T. pleurotum</i> E136	54.9

Tab 4 Redukce výnosu *Pleurotus ostreatus* (kmen P8X) na substrátu infikovaného *T. pleurotum* a *T. pleuroticola* (SOBIERALSKI ET AL. 2007)

Strain + <i>Trichoderma</i> sp. isolate	Yield reduction [%]
PX + <i>T. pleuroticola</i> T4/15/A	79.2
PX + <i>T. pleuroticola</i> M143	76.9
PX + <i>T. pleuroticola</i> M142	68.2
PX + <i>T. pleurotum</i> E136	57.8
PX + <i>T. pleurotum</i> T12/B	53.2
PX + <i>T. pleurotum</i> E139	41.0

3.3.3. Ochrana pěstebního substrátu substrátu

Využívána jsou následující opatření jak je u vádí SHERMA AT AL. (2007).

- 1) Velmi dobrá hygiena
- 2) Sterilizací, pasterizace a kondicionace substrátu
- 3) Použití správné koncentrace formalinu (max. 2%)
- 4) Léčebné užití chloridu vápníku (15%)
- 5) Slabý sprej Mancozeb (0,2%) nebo Bavistin (Benomyl) (0,1%) TBZ (0,2%)

Benomyl (Benlate 50wp) je aplikován proti *Dactylium*, *Mycogone*, *Trichoderma*, a *Verticillium*, v koncentraci a v dávce 240g/200litres/100m² během první zálivky (SHERMA ET AL. 2007). KREDIC ET AL. (2010) udává další použitelné varianty fungicidů, např. Captan, Prochloraz, a také poukazuje na vyšší účinnost při použití fungicidů proti *Trichoderma* spp. metodou přímé aplikace než při přimíchávání do kompostu. Jak uvádí (ERBAN ET AL. 2011) ošetření substrátu vřelou vodou se slabou koncentrací peroxidu vodíku (1%) umožnilo dobrý růst mycelia *Pleurotus ostreatus*, zvýšená koncentrace (4%) ovlivnila růst negativně. Nové perspektivy nabízí zejména šlechtitelské programy, kdy jsou vyvíjeny nové odolnější kmeny pěstovaných hub.

4. Materiál a metodika

4.1. Materiál

4.1.1. Příprava živných médií:

Slámový substrát: Do připravených čistých nádob byly umístěny granulované tlakově lisované slámové pelety a ve váhovém poměru 1 : 2,5 zality horkou vodou. Po zchladnutí byly plněny do polyethylenových rukávů nebo do uzavíratelných 40 ml skleniček. Naplněné rukávy a nádoby se substrátem byly po té sterilizovány při teplotě 110°C po dobu 25 minut.

MA2 2% sladivový agar: Do sterilizačních lahví byl připraven roztok ze 400 ml vody, 8 g sladiny a 8 g agaru. Tato vodní suspenze byla pomocí autoklávu sterilizována při teplotě 110 °C po dobu 25 minut. Po zchladnutí byla nalévána do Petriho misek s průměrem 9 cm.

Slámový agar: 50 g stébel pšenice bylo sterilizováno v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 30 minut, sláma byla následně přefiltrována a roztok doplněn vodou do objemu 1 litru. Do sterilizačních lahví byl připraven roztok ze 400 ml slámového výluhu a 8g agaru. Opět byla provedena sterilizace v autoklávu po dobu 20 minut při teplotě 111,5 °C. Po zchladnutí byla směs nalévána do Petriho misek s průměrem 9 cm.

PDA potatodexterglucose agar: V 1 litru vody bylo uvařeno 330 g brambor, následně přefiltrováno a objem roztoku doplněn na 1litr. Do sterilizačních lahví byl připraven roztok ze 400 ml bramborového výluhu, 6 g agaru a 8 g d-glukózy. Tato vodní suspenze byla pomocí autoklávu sterilizována při teplotě 110 °C, po dobu 25 minut. Po zchladnutí byla směs nalévána do Petriho misek s průměrem 9 cm.

4.1.2. Použité kmeny hub

4.1.2.1. Kmeny *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus ostreatus **CPPF 5001** pocházející z České republiky, izoloval I. Jablonský jako P11 v roce 2009, determinoval I. Jablonský v roce 2009, uložen je ve Sběrce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze - Ruzyni.

Pleurotus ostreatus **CPPF 5002** pocházející z České republiky, izoloval I. Jablonský jako P12 v roce 2009, determinoval I. Jablonský v roce 2009, uložen je ve Sběrce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze - Ruzyni

Pleurotus ostreatus **5017** - hybridní kultivar maďarského původu

Pleurotus ostreatus **CPPF 5143 5142** - izolován z plodnice hlívy z Orlických hor (Východní Čechy), izoloval J. Reich 2014, uložen je ve Sběrce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

Pleurotus ostreatus **5080 KRYOS** - původ kmene firma Sylvan

Pleurotus ostreatus **5081 SPOPO** - původ kmene firma Sylvan

Pleurotus ostreatus **CPPF 5142** - izolován z plodnice hlívy z Kokořinska (Střední Čechy), izoloval D. Novotný 2013, uložen je ve Sběrce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

Pleurotus ostreatus **CPPF 5143** - izolován z plodnice hlívy z Jižní Moravy, izoloval D. Novotný 2013, uložen je ve Sběrce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

Pleurotus ostreatus **CPPF 5144** - izolován z plodnice hlívy z Jižní Moravy, izoloval D. Novotný 2013, uložen je ve Sběrce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

Pleurotus ostreatus **CPPF 5146** - izolován z plodnice hlívy z Hořovic (Střední Čechy), izoloval D. Novotný 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

4.1.2.2. Kmeny *Pleurotus pulmonarius*

Pleurotus pulmonarius **CPPF 5011** - izolován z plodnice hlívy z Valticka (Jižní Morava), izoloval D. Novotný 2011, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

Pleurotus pulmonarius **CPPF 5086** - izolován z plodnice hlívy z České republiky, izoloval I. Jablonský 2012, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

Pleurotus pulmonarius **CPPF 5116** - izolován z plodnice hlívy z Českých Budějovic (Jižní Čechy), izoloval D. Novotný 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

Pleurotus pulmonarius **CPPF 5127** - izolován z plodnice hlívy z Hořovic (Střední Čechy), izoloval D. Novotný 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

Pleurotus pulmonarius **CPPF 5128** - izolován z plodnice hlívy z Kokořínska (Střední Čechy), izoloval D. Novotný 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

Pleurotus pulmonarius **CPPF 5129** - izolován z plodnice hlívy z Jesenného (Severní Čechy), izoloval D. Novotný 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

4.1.2.3. Kmeny *Trichoderma pleurotum*

Trichoderma pleurotum **kmen CPPF RR6** byl izolován z hlívového substrátu z pěstírny hlívy z blízkosti Bučovic (jižní Morava), izoloval D. Novotný 2013,

determinoval D. Novotný VII. 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni

***Trichoderma pleurotum* kmen CPPF BS** byl izolován z hlívového substrátu z pěstírny hlívy V Biskupicích (jižní Morava), izoloval D. Novotný IX. 2013, determinoval D. Novotný IX. 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

***Trichoderma pleurotum* kmen CPPF BLA** byl izolován z hlívového substrátu z pěstírny hlívy v Blatničce (jižní Morava), izoloval D. Novotný IX. 2013, determinoval D. Novotný IX. 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

***Trichoderma pleurotum* kmen CPPF BR** byl izolován z hlívového substrátu z pěstírny hlívy v Bravanticích (severní Morava), izoloval D. Novotný 2013, determinoval D. Novotný 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

***Trichoderma pleurotum* kmen CPPF 432** byl izolován z hlívového substrátu v pěstírně hub ve Vrbně nad Lesy, okres Louny, izoloval D. Novotný jako *Trichoderma* Volek VI. 2011, determinoval D. Novotný VI. 2011, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

4.2. Metodika

4.2.1. Vliv Agarových médií na růst *Trichoderma Pleurotum*

Hypotéza: *Trichoderma pleurotum* roste nejlépe na slámovém agaru.

K testování byla zvolena 3 média, bramborovo-d-glukósový agar (PDA), sladinový agar (MA2), a slámový agar. Jednotlivá media byla umístěna do Petriho misek s průměru 9 cm. Do středu misky byla jednobodový způsobem naočkována *Trichoderma pleurotum*, bylo použito pět kmenů *Trichoderma pleurotum* (BLA, BS, BR, RR6 a 432), pro každý kmen v pěti opakováních. Kultury byly umístěny ve tmě

při teplotě 25°C. Po třech dnech bylo provedeno měření nárůstu jednotlivých kolonií *Trichoderma pleurotum*, pro každou variantu byla provedena dvě na sebe kolmá měření. Vyhodnocení bylo provedeno po třech dnech porovnáním průměrné velikosti kolonií všech kmenů na jednotlivých kultivačních médiích.

4.2.2. Vliv různých světelných režimů na růst a vitalitu *Trichoderma pleurotum*.

Hypotéza: *Trichoderma pleurotum* roste nejlépe při rovnoměrném střídání tmy a denního světla.

Bylo zvoleno 8 světelných režimů. K růstu *Trichoderma pleurotum* na (MA2), byla zvolena teplota 25 °C. Pro každý typ světelného režimu (1. tma (D); 2. tma + UV, 3. tma + umělé světlo (AL), 4. tma + umělé světlo + UV, 5. tma + near UV, tma + near UV + UV, 6. umělé světlo + 7. near UV, 8. umělé světlo + near UV + UV) Všechny světelné režimy se střídaly v poměru 12/12, UV bylo aplikováno po 24 hodinách na 12 hodin, ale jen 1x za celou dobu inkubace. Bylo provedeno pět opakování. Jednobodově naočkované vzorky v Petriho miskách byly na 3 dny umístěny do nastavených termostátů s jednotlivými světelnými režimy k inkubaci. Po té bylo provedeno měření nárůstu kolonií, pro každou variantu byla provedena dvě na sebe kolmá měření. Vyhodnocení bylo provedeno porovnáním průměrné velikosti kolonií všech kmenů v jednotlivých světelných režimech. K pokusu bylo použito pět kmenů *Trichoderma pleurotum* (BLA, BS, BR, RR6 a 432).

4.2.3. Vystavení *Trichoderma pleurotum* různým intenzitám ozonu (40, 60, 90%) po různě dlouhou dobu (5, 10, 20 min.) a následné vyhodnocení vitality mycelia.

Hypotéza: Vyšší koncentrace O₃ výrazně omezuje růst *Trichoderma pleurotum*.

Pro tento pokus bylo použito 5 kmenů *Trichoderma pleurotum* (BLA, BS, BR, RR6 a 432), pro každou intenzitu ozonu a časový úsek bylo založeno pět opakování, byla také provedena pozitivní kontrola. Celkem tedy bylo použito 50 misek s každým kmenem. Jako kultivační médium byl zvolen 2 % sladinový agar. Po třech dnech růstu byly vzorky v různých časových úsecích (5, 10 a 15 min.) vystaveny zvýšené koncentraci ozonu (40%, 60%, a 90%) generované elektronickým ozonizérem Hailea HLO-820A. Následně byly všechny varianty jednobodově přeočkovány opět na

Petriho misky s MA2 a 3 dny inkubovány. Po té byla provedena kontrola a vyhodnocení životaschopnosti jednotlivých vzorků. Hodnotícím kritériem byla úmrtnost přeočkovaných kolonií houby, které byly izolovány z ozářených kmenů bezprostředně po expozici ozonu.

4.2.4. Vliv expozice *Trichoderma pleurotum* různým teplotám (50, 55, 60, 65 °C), v různém časovém úseku (5, 10, 20 min.) na její životaschopnost.

Hypotéza: *Trichoderma pleurotum* nepřežije, pokud bude vystavena teplotě nad 60°C po dobu 5 minut.

Příprava vodní sporové suspenze:

Z čerstvých kultur *Trichoderma pleurotum*, vypěstovaných na 2% sladinovém agaru byly extrahovány hyfy a spory, a umístěny do kádinky s vodou. Mikroskopováním, za pomoci Bürkerovy komůrky byly zaznamenány průměrné počty spor v suspenzích z jednotlivých kmenů. Následně byla upravena koncentrace spor ve všech roztocích přidáním vody na stejnou hodnotu dle roztoku s nejnižší koncentrací.

Inokulace substrátu:

Do uzavíratelných skleniček o objemu 40 ml bylo umístěno 10 g substrátu ze slámových pelet a naočkováno 2 ml vodní sporové suspenze. Pro každou teplotu a časový úsek bylo připraveno pět opakování. Po 5 dnech byla provedena vizuální kontrola nárůstu, pro malý nárůst *Trichoderma pleurotum* byla lhůta pro provedení pokusu posunuta o tři dny. Z důvodu nedostatečného prorůstání plísně ve všech skleničkách musel být počet opakování nakonec snížen na tři (nejvíce narostlé kultury) pro každou kombinaci teploty a času.

Samotná expozice vzorků požadovaným teplotám probíhala ve vodní lázni, aby bylo dosaženo rychlejšího prohřátí substrátu uvnitř lahviček. Čas expozice byl měřen od okamžiku dosažení požadované teploty uvnitř lahvičky, což bylo zjištěno pomocí kontrolního vzorku se zavedeným digitálním teploměrem. Ihned po zchladnutí skleniček byly kmeny *Trichoderma pleurotum* očkované na Petriho misky s MA2 a inkubovány. Pro vyhodnocení pokusu byla sledována schopnost přežití vzorků po 3 dnech inkubace.

4.5. Odolnost kmenů *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus Pulmmonarius* vůči kmenům *Trichoderma pleurotum*.

Hypotéza: Existují kmeny *Pleurotus ostreatus* / *Pleurotus Pulmmonarius* které jsou odolné vůči *Trichoderma pleurotum*.

Tento pokus byl proveden ve dvou variantách. První varianta byla provedena na pěstebním substrátu ze slámových pelet, který je používán v praxi při intenzivním pěstování hlív. Ve druhé variantě pokusu pak byly testy provedeny na 2% sladidlovém agarů používaném v laboratorních podmínkách.

4.5.1. Odolnost kmenů *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus Pulmmonarius* proti kmenům *Trichoderma pleurotum* na slámovém substrátu.

K testování byly použity PE-HD rukávy (obchodní název NILEN) s kalibrováním průměrem 10 cm a délkou 50 cm, které byly naplněny slámovým substrátem. Konce rukávů byly uzavřeny molitanovými zátkami, aby byl zajištěn přístup vzduchu a dostatečná výměna plynů. Po sterilizaci při teplotě 110°C po dobu 25 minut byly naplněné rukávy naočkovány *Pleurotus ostreatus* (kmeny 5001) a *Trichoderma pleurotum* (kmeny RR6, 432) vždy přibližně 5 cm od kraje molitanové zátky. Takto připravené rukávy byly uloženy do termostátů k inkubaci při tmě a teplotě 25°C. Kontrola byla prováděna v týdenních intervalech vizuálním hodnocením růstu mycelia jednotlivých hub, ale nárůst kolonií byl nedostatečný, pomalý a interakce nebylo možné pozorovat. Z tohoto důvodu byly několikrát upraveny podmínky pro růst mycelia. Nejdříve byl pokus opakován s méně dotaženými konci rukávů pro větší výměnu plynů. Po té byl upraven váhový podíl vody a pelet při přípravě substrátu v poměru 1 : 2,5. Nakonec byly místo PE-HD rukávů použity skleněné nádoby o objemu 1litr.

4.5.2. Růst kmenů *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus Pulmmonarius* proti *Trichoderma pleurotum* na 2% sladinovém agaru

Pro tento pokus bylo využito celkem 11 kmenů *Pleurotus ostreatus*, 6 kmenů *Pleurotus pulmonarius* a 5 kmenů *Trichoderma pleurotum*. Všechny kultury byly při přeočkování staré 7-14 dní. Jednotlivé kmeny byly očkované na Petriho misky proti sobě s vždy 2 cm od okraje. Každý kmen *Pleurotus ostreatus* nebo *Pleurotus pulmonarius* proti každému kmeni *Trichoderma pleurotum*. Pro všechny varianty bylo provedeno pět opakování. Naočkované misky byly uloženy do termostátů k inkubaci ve tmě při teplotě 25 °C. Také byly připraveny pozitivní kontroly od všech zúčastněných kmenů hub. Po pěti dnech byly změřeny velikosti nárůstu kolonií *Trichoderma pleurotum* ve směru k hlívě i směrem, kde k ovlivnění druhým organismem nedocházelo. Pro velký počet vzorků byly pokusy s *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus pulmonarius* provedeny odděleně. Vyhodnocení bylo provedeno porovnáním zpomalení růstu jednotlivých kmenů, *Trichoderma pleurotum* při ovlivnění *Pleurotus ostreatus* nebo *Pleurotus pulmonarius*

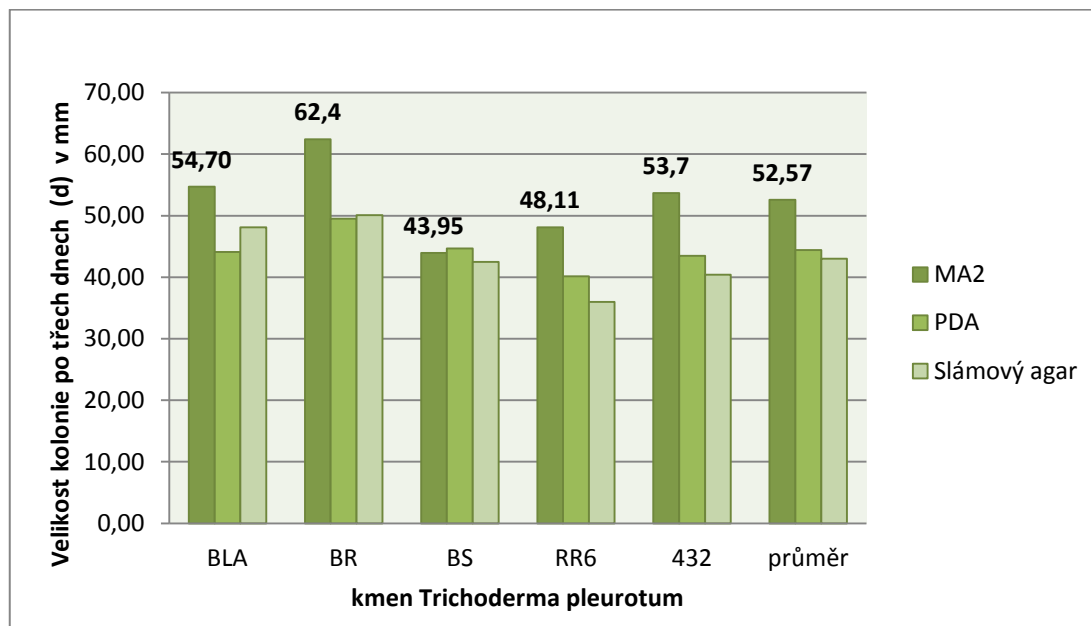
5. Výsledky

5.1. Vliv Agarových médií na růst *Trichoderma Pleurotum*

Z porovnání výsledků naměřených hodnot vychází jako nejvhodnější kultivační médium 2% sladinový agar. Výsledné hodnoty u tohoto média převyšují ta ostatní přibližně 20%. Průměrné hodnoty jednotlivých použitých kmenů *Trichoderma pleurotum* v závislosti na použitém médiu můžeme zhodnotit v (tab. 1). Nejnižších průměrných hodnot dosahoval kmen RR6 na slámovém agaru (36 mm) naopak nejvyšší průměrné hodnoty bylo dosaženo kmenem BR na 2% sladinovém agaru. Testované varianty pak vykazují rychlost 43,95 - 62,40 mm za 3 dny při teplotě 25°C. V dalších pokusech bude tento agar dále upřednostňován. Absolutní minima a maxima hodnot růstu ze všech vzorků na MA2, mají hodnotu 42 - 65 mm. Ve třech případech se plíseň vůbec neuchytila, tyto vzorky byly vyřazeny z testování.

Hypotéza, že *Trichoderma pleurotum* roste nejlépe na slámovém agaru, nebyla potvrzena.

Graf 1 Velikost kolonie *Trichoderma pleurotum* na různých živných médiích.



Tab. 3 Průměrná velikost kolonií d (mm) po třech dnech na jednotlivých mediích

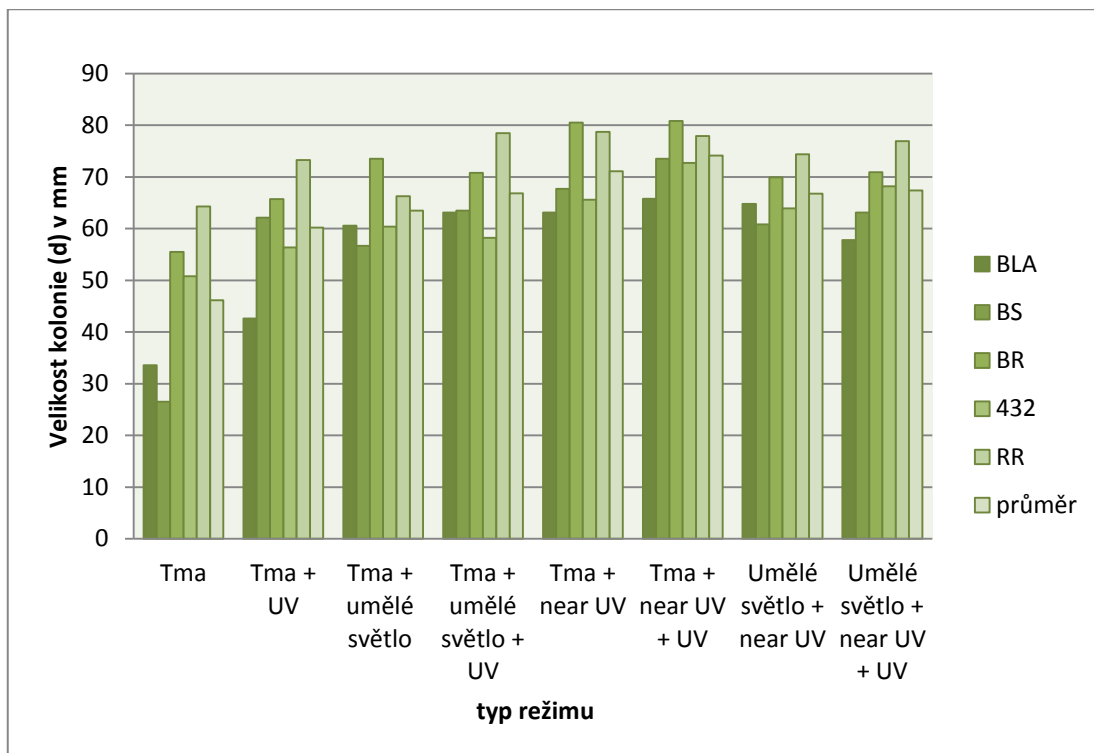
	BLA	BR	BS	RR6	432	průměr
MA2	54,70	62,4	43,95	48,11	53,7	52,57
PDA	44,10	49,5	44,7	40,13	43,5	44,39
Slámový agar	48,1	50,1	42,5	36	40,4	43

5.2. Vliv různých světelných režimů na růst a vitalitu *Trichoderma pleurotum*.

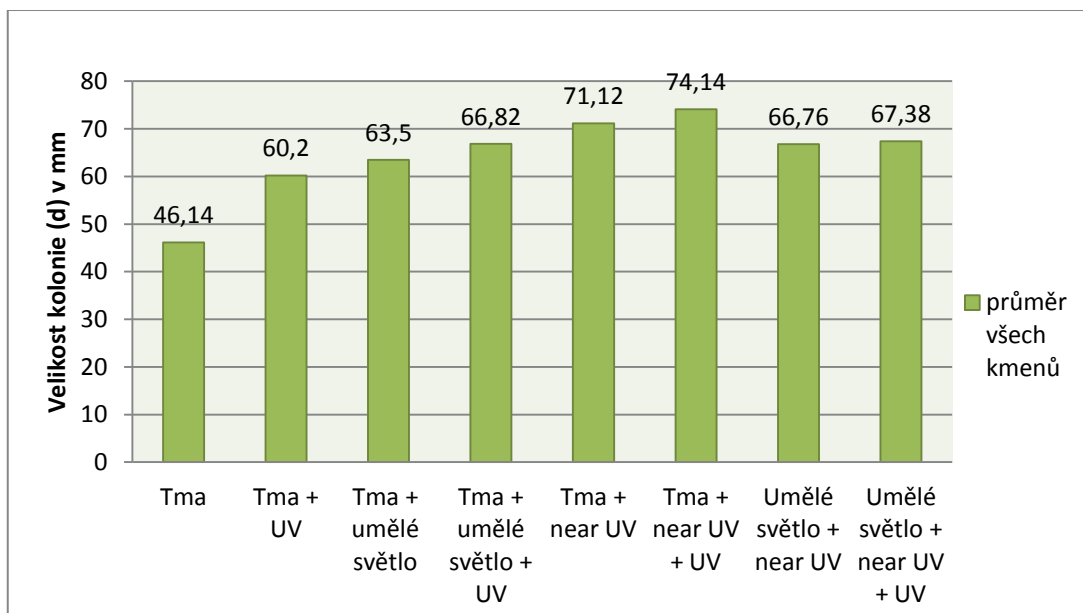
Výsledky ukazují, že průměrného nejmenšího přírůstku dosahovaly všechny kmeny v naprosté tmě (graf 2). Z pokusu vyplývá, že nejvhodnějším světelným režimem pro růst *Trichoderma pleurotum* je střídání tmy, near UV a UV, u kterého bylo dosaženo průměrné velikosti kolonií 74,14 mm po třech dnech při teplotě 25°C. Kmen CPPF BR vykazuje v uvedeném režimu dokonce hodnoty 80,8 mm. Nejmenší kolonie v tomto režimu byly vytvořeny kmenem CPPF BLA a to 65,8 mm. Naopak nejmenší velikosti kolonií byly vytvořeny v režimu tmy, v průměru 46,14 mm/3dny/25°C z čehož vyplývá, že jakákoli testovaná světelná varianta je pro růst *Trichoderma pleurotum* vhodnější.

Hypotéza, že *Trichoderma pleurotum* roste nejlépe při rovnoměrném střídání tmy a denního světla nebyla pokusem potvrzena.

Graf 2 Nárůst kmenů *Trichoderma pleurotum* v jednotlivých světelných režimech po třech dnech



Graf 3 Průměrný nárůst kmenů *Trichoderma pleurotum* v jednotlivých režimech světla po třech dnech



5.3. Vystavení *Trichoderma pleurotum* různým intenzitám ozonu (40, 60, 90%) po různě dlouhou dobu (5, 10, 20 min.) a následné vyhodnocení úmrtnosti mycelia.

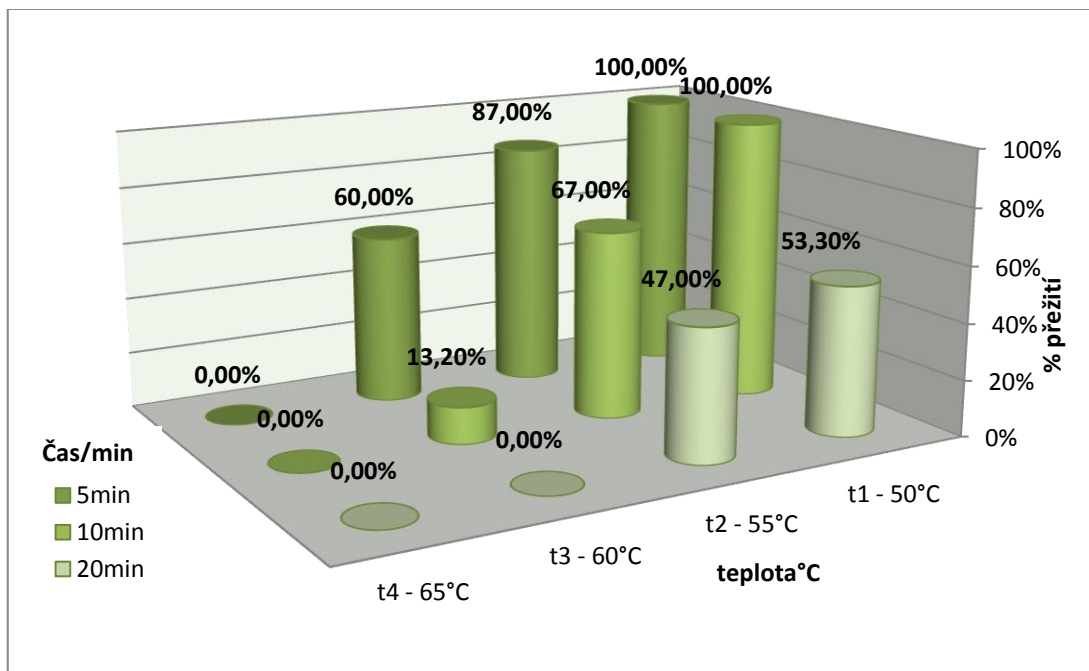
Z výsledků vyplynulo, že intenzita ozonu, ani v jednom z časových režimů, neměla vliv na mortalitu *Trichoderma pleurotum*. Všech 225 přeočkováných vzorků přežilo.

Hypotéza, že vyšší koncentrace O₃ výrazně omezuje vývoj *Trichoderma pleurotum* potvrzena nebyla.

5.4. Vliv expozice *Trichoderma pleurotum* různým teplotám (50, 55, 60, 65 °C), v různém časovém úseku (5, 10, 20 min.) na její přežívání.

Výsledky ukazují, že teplotu 65°C nepřežije žádný z testovaných vzorků již při expozici po dobu 5 minut. Při snížení teploty o 5 °C, je možné pozorovat odolné kmeny BR, 432 a BS, které při působení teploty 60 °C po dobu 5 minut přežívají 100%, kmen BR přežívá částečně i po dobu 10 min. Dvacetiminutová expozice měla však na všechny vzorky likvidační vliv (Tab 5). Velké rozdíly jsou mezi kmeny ve všech třech teplotních stupních. Zatímco kmeny 432 a BR 100% přežívají teplotu 55°C po všechny testované časové úseky. Nejcitlivější kmen RR6 vykazuje 100% mortalitu při dvacetiminutové expozici teplotě 50 °C, kratší působení této teploty již nemá vliv na žádný z uvedených kmenů. Jednotlivé kmeny vykazují vysokou variabilitu odolnosti na působení testovaných teplot.

Graf 4 Vliv expozice *Trichoderma pleurotum* různým teplotám (50, 55, 60, 65 °C), v různém časovém úseku (5, 10, 20 min.) na její přežívání



Tab. 4 Vliv působení teplot (50, 55, 60, 65 °C) na *Trichoderma pleurotum* v různém časovém úseku (5, 10, 20 min.) na její přežívání (průměr všech kmenů)

průměr	5min	10min	20min
t1 - 50°C	100%	100%	53,30%
t2 - 55°C	87,00%	67,00%	47,00%
t3 - 60°C	60,00%	13,20%	0,00%
t4 - 65°C	0,00%	0,00%	0,00%

Tab. 5 Vliv jednotlivých kmenů *Trichoderma pleurotum* při expozici 60°C v různém časovém úseku na její přežívání

60°C	BS	BR	BLA	RR6	432	průměr
5min	100,00%	100,00%	0,00%	0,00%	100,00%	60,00%
10min	0,00%	66,00%	0,00%	0,00%	0,00%	13,20%
20min	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%

5.5.1. Odolnost kmenů *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus Pulmmonarius* proti kmenům *Trichoderma pleurotum* na slámovém substrátu.

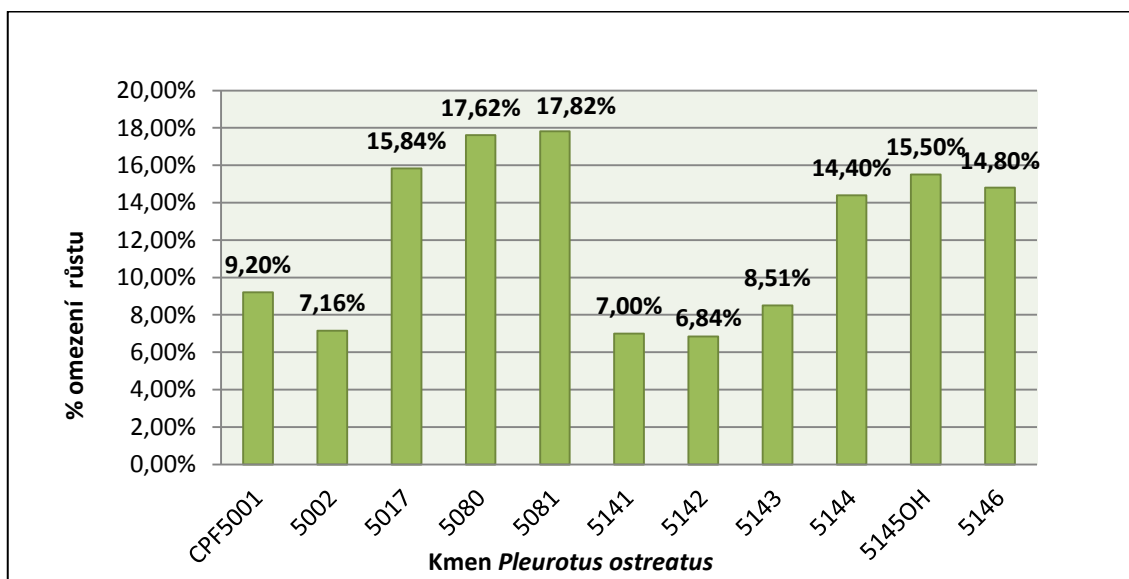
Výsledky nebylo možné hodnotit, mycelia substrátem neprorůstala dostatečně, případně se vůbec neuchytila. I přes založení 4 různých variant pokusu byl výsledek totožný. Důvod se nepodařilo objasnit.

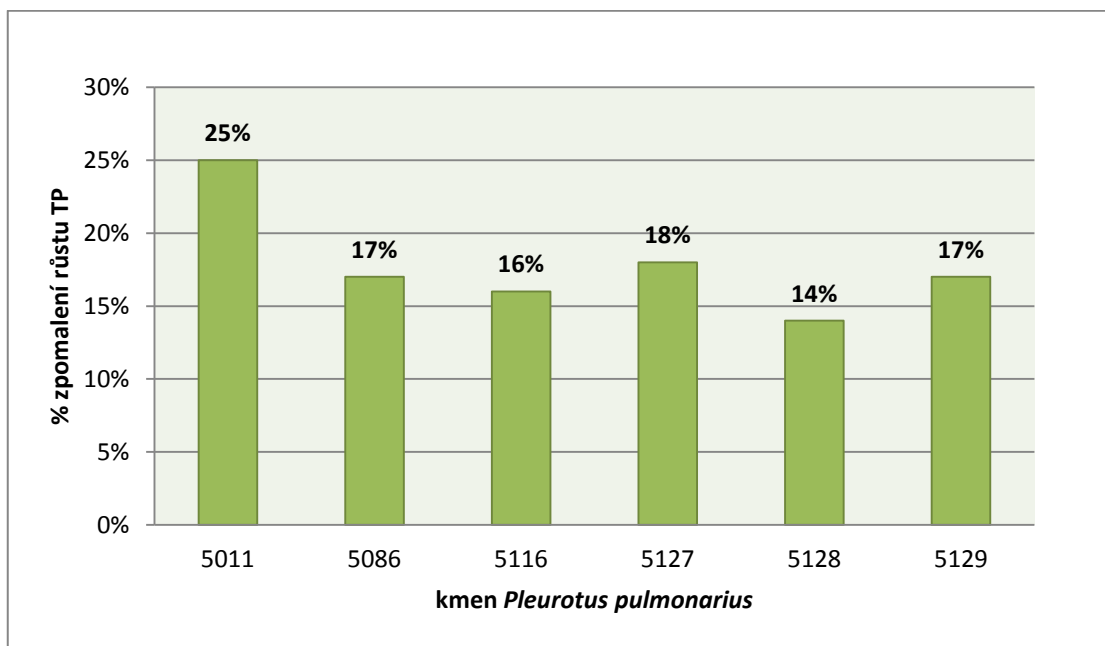
Hypotéza, že existuje kmen *Pleurotus ostreatus* / *Pleurotus Pulmmonarius*, který je odolný vůči *Trichoderma pleurotum*, nebyla ověřena.

5.5.2. Odolnost kmenů *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus Pulmmonarius* proti kmenům *Trichoderma pleurotum* na MA2.

Výsledky ukazují na rozdíly v rezistenci jednotlivých kmenů *Pleurotus ostreatus* (Graf 5) a *Pleurotus pulmonarius* (Graf 6) proti *Trichoderma pleurotum*. Nejvyšší hodnoty rezistence vykazují komerčně využívané kmeny hlív, bezmála 18 % zpomalení růstu plísně. U divokých kmenů jsou rozdíly. Kmeny CPPF 5144, CPPF 5145, CPPF 5146 vykazují hodnoty okolo 15 %. Ostatní testované kmeny nepřekročily hranici 10%.

Graf 5 Omezení růstu *Trichoderma pleurotum* podle zvoleného kmene *Pleurotus ostreatus*



Graf 5 Omezení růstu *Trichoderma pleurotum* podle zvoleného kmene *Pleurotus pulmonarius*

Porovnání kmenů *Pleurotus pulmonarius* je zobrazeno v grafu 6. Výsledky ukazují nejvyšší hodnoty zpomalení růstu *Trichoderma pleurotum* u kmenu CPPF 5011, které dosahuje hodnoty 25 %. Nejnižší odolnost projevuje kmen CPPF 5129 se 14 %.

Hypotéza, že existuje kmen *Pleurotus ostreatus*, který je odolný vůči *Trichoderma pleurotum*, byla potvrzena.

6. Diskuze

Vliv Agarových médií na růst *Trichoderma Pleurotum*

Výsledky testování ukazují rozdíly v rychlosti růstu *Trichoderma pleurotum* v závislosti na zvoleném médiu i kmenu. Nejlepších hodnot růstu dosahovala většina kmenů na MA2 při průměrné velikosti kolonie 52,5 mm po třech dnech při teplotě 25°C. Nejvyšší hodnoty na tomto médiu dosáhl kmen BR 62,4 mm a nejnižší kmen BS 43,95 mm. Velikost kolonií na dalších testovaných kultivačních médiích byla vyrovnanější. Na PDA dosahovala v průměru 44,4 mm a na slámovém agaru 43mm. I zde byl kmen BR nejrychleji rostoucím, na PDA 49,5 mm a na slámovém agaru 50,1 mm při uvedených podmínkách. Nejnižších hodnot na PDA i slámovém agaru dosáhl kmen RR6, a to 40,13 mm (PDA) a 36mm (slámový agar). Hypotéza, že nejvhodnějším pěstebním médiem pro růst *Trichoderma pleurotum* je slámový agar byla pokusem vyvrácena. SIWULSKY (2011) uvádí velikost kolonií *Trichoderma pelurotum* v rozmezí 68-73 mm a *Trichoderma pleurotica* 79-87 mm při růstu na PDA ve tmě při 25°C po dobu pěti dnů. PARK (2006) udává velikost nárůstu kolonie *Trichoderma pleurotum* 52-60 mm a *Trichoderma plurotica* dokonce 60-65 mm inkubovaných ve tmě na PDA za tři dny při teplotě 25°C.

Mé výsledky tak vysoký růst *Trichoderma pleurotum* na PDA nevykazují. Nejvyššího růstu na PDA dosáhl kmen BR s 49,5 mmm. Přes hranici 52 mm se dostaly pouze 3 kmeny (BR, 432, BLA) a to jen na MA2. Výsledky potvrzuje pouze kmen BR s velikostí kolonie 62,4 mm, ale jen při pěstování na MA2. Z mé práce vyplynulo, že MA2 je nejvhodnějším médiem pro kultivaci *Trichoderma pleurotum*, velikost kolonií převyšuje ostatní testované vzorky přibližně o 20 %.

Vliv různých světelných režimů na růst a vitalitu *Trichoderma pleurotum*.

Výsledky ukazují vysoké rozdíly v růstu kolonií mezi jednotlivými kmeny *Trichoderma pleurotum*. Nejmenších rozměrů kolonií dosahovaly kmeny ve

světelném režimu tma, v průměru 46,14 mm. Kmen BS dorostl za tři dny 26,5 mm. Kmen 432 za stejných podmínek dosáhl velikosti kolonie 64,3 mm. Druhým nejslabším režimem bylo střídání tmy a světla, s průměrným nárůstem kolonií 60,02 mm. Nejmenší nárůst v tomto režimu dosahoval kmen BR, jen 42,6 mm. kmen 432 pak 73,3 mm. Nejvhodnějším světelným režimem bylo střídání Tmy, near UV a UV kdy kolonie dosáhly průměrné velikosti 74,14 mm. V tomto případě nejmenší velikosti dorostl kmen BR 65,8 mm a největších rozměrů kmen BLA s 80,8 mm. Hypotéza, že *Trichoderma pleurotum* roste nejlépe při rovnoměrném střídání tmy a denního světla nebyla potvrzena. Jak uvádí JABLONSKÝ (2006) během kolonizace substrátu hlíva osvětlení nepotřebuje, během nasazování plodnic je určitá míra osvětlení nutná, přibližně 100 – 400 luxů po dobu 12 hodin za den.

Z výsledků vyplývá, že udržovat tmu v pěstírnách do doby iniciace tvorby plodnic je výhodné nejenom z ekonomického hlediska, ale také je zpomalen vývoj *Trichoderma pleurotum* při napadení pěstebního substrátu *Pleurotus ostreatus*.

Vystavení *Trichoderma pleurotum* různým intenzitám ozonu (40, 60, 90%) po různě dlouhou dobu (5, 10, 20 min.) a následné vyhodnocení úmrtnosti mycelia.

Žádná z intenzit ozonu, ani v jednom z časových režimů neměla žádný vliv na vitalitu *Trichodermy pleurotum*. Testovaná hypotéza, že vyšší koncentrace O₃ výrazně omezuje růst *Trichiderma pleurotum* byla vyvrácena. Jak udává (ANONYMOUS) ozón je při sterilizaci a dezinfekci více než 3000-krát rychlejší než chlór, 25-krát efektivnější než kyselina chloritá (NOCL), 2500-krát než chlornan (OCL) a 5000-krát než chloramin (NH₂CL) a je bezpečnější. Neexistuje žádný virus či bakterie odolávající ozónu. Při dezinfekci ozónem dochází k prasknutí buněčné stěny. TULASENDRAPURAM (2005) při testování vlivu působení ozonu vůči *Trichoderma hartzianum*, ověřuje účinnost dvou intenzit ozonu 5000mul/l a 10000 mul/L. Při působení ozonu 8 hodin vykazovaly obě varianty redukci a to 3,64 a 5,78 log 10 CFU/g.

Předložené výsledky nepotvrzují uvedené informace. Při pokusu nebyly měřeny koncentrace ozonu. I pro vedoucího oddělení mikrobiologie byl výsledek překvapením. Existuje důvod pro opakování pokusu s přesným měřením intenzity ozonu a případné delší doby expozice.

Vliv expozice *Trichoderma pleurotum* různým teplotám (50, 55, 60, 65 °C), v různém časovém úseku (5, 10, 20 min.) na její přežívání.

Při testování ošetření *T. pleurotum* teplotou byly zjištěny rozdíly mezi kmeny. Při ošetření 55°C nepřežil kmen BLA již po 10 minutách a kmen BS po 20 minutách. Ostatní kmeny teplotu 55 °C přežily. Kmen RR6 BLA nepřežil při 60 °C již po 5 minutách, kmeny 432, BS po 10 minutách. Nejodolnější kmen BR nepřežil tuto teplotu až po době 20 minut. Žádný z kmenů nepřežije teplotu 65 °C.

Hypotéza, že *Trichoderma pleurotum* nepřežije, pokud bude vystavena teplotě nad 60°C po dobu 5 minut byla vyvrácena. JABLONSKÝ A ŠAŠEK (2006) uvádí různé způsoby tepelného ošetření připravovaného substrátu. Sterilizace, kdy je používána teplota 110 - 115 °C po dobu 2 hodin, semisterilizace, která probíhá při teplotách 80 - 100 °C po dobu 2 hodin a pasterizace při 60 - 70 °C po dobu 24 - 48 hodin. V praxi jsou využívány i další dvě metody - „rychlá pasterizace“ zahřátí na 58 - 60 °C po dobu 18 - 21 hodin a kombinace pasterizace s kondicionací, kdy je substrát vystaven 60 °C po dobu 8 - 10 hodin. Dále je uvedeno, že při teplotě nad 63 °C dochází k nežádoucí karamelizaci. ZADROBILOVÁ (2012) uvádí, že kmen 432 přežil teplotu 65°C po dobu 5 min. To je v rozporu s předloženými výsledky, kde tuto teplotu nepřežil žádný z pěti testovaných kmenů. Z výsledků pokusu vyplývá, že k ošetření substrátu vůči *Trichoderma pleurotum* stačí teplota 65 °C po dobu 5 minut nebo teplota 60°C po dobu 20 minut v celé vrstvě substrátu.

Odolnost kmenů *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus Pulmmonarius* proti kmenům *Trichoderma pleurotum*

Z předložených výsledků vyplývá, že v odolnosti jednotlivých kmenů *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus pulmonarius* proti *Trichoderma pleurotum* jsou rozdíly. Nejlepších výsledků bylo dosaženo s komerčně využívanými kmeny 5080 a 5081, které dosáhly 17,62 % a 17,82 % zpomalení růstu *Trichoderma pleurotum*. Nejhuře hodnocené kmeny *Pleurotus ostreatus* nedosahovaly zpomalení růstu *Trichoderma pleurotum* ani 10%. Kmen 5142 dosáhl hodnot zpomalení 6,84%, kmen 5141 7%

kmen 5002 7,16% kmen 5143 8,51% a kmen 5001 9,2 %. I mezi přírodními kmeny byly odolnější výjimky, a to kmen 5144 s 8,51%, kmen 5145 s 15,5 % a kmen 5146 s 14,8 %. Hypotéza, že existuje kmen *Pleurotus ostreatus*, který je odolnější vůči *Trichoderma pleurotum*, byla potvrzena. Z práce ZADROBILOVÉ (2012), která provedla pokusy na substrátu ze slaměných pelet porovnáním interakcí při naočkování obou organismů v různém časovém sledu, vyplývá, že jednotlivé varianty měly odlišné výsledky. V několika případech se organismy vzájemně prorůstaly, při zpožděném očkování *Trichoderma pleurotum* o 14 dní byla vymezena jasná hranice mezi organismy hranici. Při zpožděném očkování *Pleurotus ostreatus* nabírá *Trichoderma pleurotum* náskok a přerůstá *Pleurotus ostreatus*, přesto mycelium ataku odolalo. V jedné z variant uvádí vymezení jasné hranice mezi organismy. Ani jedna z hub tuto hranici nepřekonalala i přes silný růst. Jak uvádí KOMOŇ-ZELAZOWSKA ET AL. (2007), která studovala tuto problematiku in vitro, *Trichoderma pleurotum* způsobovala silnou antagonistickou odpověď k *P. ostreatus*. Konfrontační zóny mezi oběma druhy byly jasně vymezené.

Vyhodnocení předloženého pokusu probíhalo odlišně, než u předešlých prací. Bylo zaměřeno na porovnání růstu *Trichoderma pleurotum* při kontaktu s *Pleurotus ostreatus* a *Pleurotus pulmonarius* a bez něj. Z pokusu vyplývá, že testované komerční kmeny hlív mají velmi dobrou rezistenci vůči *Trichoderma pleurotum*. Existují také divoké kmeny s dobrou odolností.

7. Závěr

Tato práce se zabývala vlivem podmínek na růst *Trichoderma pleurotum* a testovala odolnost různých kmenů hlív při napadení substrátu tímto kompetičním organismem.

V prvním pokusu bylo zjištěno, že vhodným kultivačním médiem pro růst *Trichoderma pleurotum* je 2 % sladinový agar. Ostatní testovaná média, bramborovo d-glukosový agar a slámový agar vykazovala o 20% nižší hodnoty velikosti kolonií. Také jednotlivé kmeny *Trichoderma pleurotum* prokázaly značnou variabilitu v růstu, který se lišil v rámci jednoho kultivačního média až o 14 mm během tří dnů.

V druhém pokusu bylo zjištěno, že ideální světelné podmínky pro růst *Trichoderma pleurotum* představuje kombinace tmy, Near UV a UV. Naopak nejhůře se vyvíjí ve tmě. Růst mycelia *Pleurotus ostreatus* nevyžaduje osvětlení. Z pokusu vyplývá, že jakákoli kombinace světla je pro růst *Trichodermy pleurotum* lepší než inkubace ve tmě. Z tohoto důvodu je vhodné i ekonomicky výhodné pěstovat hlívu ústřičnou bez osvětlení až do fáze iniciace tvorby plodnic.

Ve třetím pokusu byla prokázána neúčinnost ozonu na přežívání *Trichoderma pleurotum* i při expozici 20 minut. Tento výsledek je v rozporu s literaturou. Pro potvrzení nebo vyvrácení výsledků doporučuji provést další měření. S ohledem na pěstování hlívy se jedná o zajímavou možnost sterilizace substrátu, která by měla být dále prozkoumána.

Čtvrtý pokus byl zaměřen na testování letální teploty *Trichoderma pleurotum*. Z pokusu vyplynulo, že minimální teplota pro ošetření substrátu je 65 °C aplikovaná po dobu 5 minut nebo teplota 60°C aplikovaná po dobu 20 minut vždy aplikovaná v celém objemu substrátu. Současná praxe využívá několik metod tepelného ošetření. Při metodách pasterizace a kombinace pasterizace s kondicionací jsou využívány maximální teploty 58- 60°C. Tyto metody a představují finanční úsporu za tepelnou energii, a také předchází nežádoucí karamelizaci substrátu.

V pátém pokusu byla testována odolnost kmenů hlívy ústříčné a hlívy plicní proti *Trichoderma pleurotum*. Při testech na pěstebním substrátu nebyly učiněny relevantní závěry. Při testování na živných médiích byla prokázána existence odolnějších kmenů hlív. Komerční kmeny vykazovaly nejvyšší míru rezistence.

Cíl práce provést vytyčené pokusy byl naplněn.

8. Literatura

ANTONÍN, V. et al. Houby jako lék. 1. Vydání. Praha: Ottovo nakladatelství s.r.o., 2013. 199 s. ISBN 978-80-7451-257-5

ATLAS, M. R. Handbook of microbiological media. 3. Vydání. London, New York, Washington D. C.: CRC press. 2004. 2051s. ISBN 0-8493-1818-1

ERBAN, V., JABLONSKÝ, I., LIBICH., M. Rozšíření pěstování nových hub o u nás netradiční léčivé druhy jako příspěvek k udržitelnému rozvoji venkova 2011

GINTEROVÁ, A. Pestujeme huby. 2. vydání. Bratislava: Příroda a. s., 1992. 208 s. ISBN 80-07-00517-X

GUPKA, V. K. ET AL. Biotechnology and Biology of Trichoderma. Waltham: Elsevier. 2014. ISBN 978-0-444-59576-8

HAGARA, L., ANTONÍN, V. BAIER, J. Velký Atlas Hub. 1. Vydání. Praha: Ottovo nakladatelství s.r.o., 2005. 432 s. ISBN 976-80-7360-334-2

HOLEC, J., BEILICH, A., BERAN M. Přehled hub střední Evropy. 1. Vydání Praha: Academia v. v. i., 2012. 622 s. ISBN 978-80-20-2077-2

HOLEC, J., BERAN, M. Červený seznam hub (makromycetů) České republiky. Praha: Příroda, 2006. 282 s. ISBN 80-87051-02-5

JABLONSKÝ, I., ŠAŠEK, V. Jedlé a léčivé Houby, Praha: Brázda, s. r. o., 2006. 264 s. + 16 stran příloh, ISBN 80-209-0341-0

KIRK, P. M. et al. Dictionary of The Fungi. CAB International Wallingford. p. 2008. 624. s ISBN: 978 0 85199 826 8.

SOCHA, R., JEGOROV, A. Encyklopedie léčivých hub. 1. Vydání. Praha: Academia v. v. i, 2014. 768 s. ISBN 978-80-7451-257-5

TULASENDRAPURAM, J. K. 2005 The Efficacy of Gaseous Ozone for the Control of *Trichoderma* in Trays Used for Mushroom Growing Fresno: California State University. 2005. ISBN 9780549099888

VALÍČEK, P. Houby a jejich léčivé účinky. 1. Vydání. Benešov: Start, 2011. 151 s. ISBN 978-80-86231-54-9

ZADROBILOVÁ L. Vliv podmínek prostředí na růst competiční houby *Trichoderma pleurotum*. Bakalářská práce. Česká zemědělská univerzita. 2012. 54 s.

Články

KOMON-ZELAZOWSKA, M. ET AL. Genetically Closely Related but Phenotypically Divergent *Trichoderma* Species Cause Green Mold Disease in Oyster Mushroom Farms Worldwide. American Society for Microbiology. 2007. Vol. 73 no. 22 7415-7426 s.

KREDICS, L. ET AL. Molecular identification of *Trichoderma* species associated with *Pleurotus ostreatus* and natural substrates of the oyster mushroom Federation of European Microbiological Societies. 2009. Microbiol Lett. 2009 300 58–67 s.

KREDICS, L. ET AL. A challenge to mushroom growers: the green mould disease of cultivated champignons Current resarches, Technology and education Topic in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. 2010. 295–305 s.

KUBÁTOVÁ, A., KOLAŘÍK, M., JABLONSKÝ, I. *Trichoderma aggressivum* – první nález v České republice. Mykologické listy. 2009. 109. 18-24.

HROUDA, P. *Pleurotus* - Klíč a taxonomické poznámky. Praha: Mykologické listy. 1999. No. 68. 28 s.

JAKLITCH, W. M., VOGLMAYR H. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. Studies in Mycology. 2015. Volume 80, 87 s.

SHARMA, S. R., KUMAR, V. P., SHARMA, V. P. Diseases and competitor moulds of mushrooms and their management. National Research Centre for Mushroom Chambaghat. 2007. 1- 81 s.

PARK M. S., BAE, K. S., AND SEUNG, YU S. H. Two New Species of *Trichoderma* Associated with Green Mold of Oyster Mushroom Cultivation in Korea. Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology. 2006 *Mycobiology* 34(3).

SOBIERALSKI K. ET AL. Impact of *trichoderma pleurotum* and *T. Pleurotuicola* isolates on yielding of *pleurotus ostreatus* (FR.) Kumm. *Journal of Plant protection resech.* 2012. vol. 52 no. 1.

SIWULSKY, M. ET AL. Mycelium growth of several *Trichoderma pleurotum* and *T. pleuroticola* and their biotic interaction with *Pleurotus florida*. Poznań: The Polish Phytopathological Society, 2011 *Phytopathologia* 59, 43–48 s.

THINGGAARD, K. Biological control of root pathogenic fungi by *trichoderma* in VANČURA V., KUNC, F. (ed) *Interrelationships between microorganisms and plant in soil.* Praha: Academia. 1987. 496s.

Internetové zdroje

JABLONSKÝ I. Restrukturace oboru pěstování hub v souvislosti se vznikem nových pracovních míst. [online] prosinec 2004 [cit 2015-03-20]. Dostupné:

http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/databaze/pdf/Restrukturace_oboru_pestovani.pdf

ANONYMOUS. Použití ozonu. dostupné <http://www.aplikaceo3.cz/?page=3&subp=2>

Tab. 1 Produkce a export hub v Číně v letech 2001-2005 (v tisících tun)

Chen et al. in (ANTONÍN ET AL. 2013)

9. Přílohy

Grafy:

Graf 1 Růst kmenů *Trichoderma pleurotum* na různých živných médiích.

Graf 2 Velikost kolonií kmenů *Trichoderma pleurotum* v jednotlivých světelných režimech po třech dnech

Graf 3 Průměrná velikost kolonií kmenů *Trichoderma pleurotum* v jednotlivých režimech světla po třech dnech

Graf 4 Vliv expozice *Trichoderma pleurotum* různým teplotám v různém časovém úseku na její přežívání.

Graf 5 Omezení růstu *Trichoderma pleurotum* podle zvoleného kmene *Pleurotus ostreatus*

Graf 6 Omezení růstu *Trichoderma pleurotum* podle zvoleného kmene *Pleurotus pulmonarius*

Obrázek:

Obr1 Penízovka sametonohá. Anonymus, dostupné:

<http://www.houbareni.cz/bigimg.php?img=1f86daba-52a35e57-4a36-f48ec794&disc=0> [cit 15.03.2015]

Obr 2 Plodnice penízovky sametonohé. Anonymus, dostupné:

<http://www.houbareni.cz/bigimg.php?img=53452c88-4e2faafc-6d7e-b41422c7&disc=0> [cit 15.03.2015]

Obr. 3 Mladé plodnice *Ganoderma lucidum* (NOVOTNÝ2014)

Obr 4 Leklokorka lesklá v přírodě. Anonymus, dostupné:

<http://www.houbareni.cz/bigimg.php?img=4d30daed-4ff815e4-d321-a06463bc&disc=0> [cit 15.03.2015]

Obr 5 *Hericium erinaceus*. Anonymus, dostupné:

<http://www.houbareni.cz/bigimg.php?img=5c2b1a2a-4d03367d-207b-61cefcfd&disc=0> [cit 15.03.2015]

Obr. 6 Hlíva ústříčná (NOVOTNÝ)

Obr. 7 *Pleurotus pulmonarius* (NOVOTNÝ)

Obr. 8 Deformace plodnic (REICH)

Obr. 9 Nevhodné nasazení mladých plodnic (REICH)

Obr. 10 Pohled do pěstírny hlívy (NOVOTNÝ)

Tabulky:

Tab. 1 Produkce a export hub v Číně v letech 2001-2005 (v tisících tun)

Chen et al. in (ANTONÍN 2013)

Tab. 2 Přibližné složení (v %) vybraných pěstovaných hub (ANTONÍN 2013)

Tab. 3 Redukce výnosu *Pleurotus ostreatus* (kmen P80) na substrátu infikovaného *T. pleurotum* a *T. pleuroticola* (Sobieralski 2007)

Tab. 4 Tab. č. 1 Redukce výnosu *Pleurotus ostreatus* (kmen P80) na substrátu infikovaného *T. pleurotum* a *T. pleuroticola* (Sobieralski 2007)

Tab. 5 Průměrná velikost kolonií po třech dnech na jednotlivých mediích

Tab. 6 Odolnost jednotlivých kmenů *Trichoderma pleurotum* při expozici 60°C v různém časovém úseku na její přežívání