

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

Makrochemické reakce exsudátů plodnic hub

Bakalářská práce

Autor: Světlana Vařejčková

Studijní program: B1501 Biologie

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

Vedoucí práce: Mgr. Jan Wipler

Oponent práce: Ing. Petr Nouzovský

Hradec Králové

červenec 2018

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Zadaní bakalářské práce

Autor:	Světlana Vařejčková
Studijní program:	B1501 Biologie
Studijní obor:	Systematická biologie a ekologie
Název práce:	Makrochemické reakce exsudátů plodnic hub
Název práce v AJ:	The macrochemical reactions of fungal fruiting bodies exudates
Cíl a metody práce:	Cílem práce je průkaz makrochemických reakcí exsudátů plodnic hub (v našem případě latexu a gutací) a jejich možný význam v determinaci rodů a druhů těchto hub. Dále chceme zjistit, jestli výsledné hodnoty pH budou odrážet ekologické poměry naleziště plodnice.
Garantující pracoviště:	katedra biologie Přírodovědecké fakulty UHK
Vedoucí práce:	Mgr. Jan Wipler
Oponent:	Ing. Petr Nouzovský
Datum zadání práce:	2017
Datum odevzdání práce:	2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, z kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne

Světlana Vařejčková

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu bakalářské práce, Mgr. Janu Wiplerovi, za pomoc při určování plodnic, instruktáž focení hub, za cenné rady i připomínky jak v terénu, tak při sepisování textové části. Dále bych chtěla poděkovat Jiřímu Kovačovi za jeho čas a zkušenosti, o které se se mnou v terénu několikrát podělil. Další poděkování patří RNDr. Karlu Hrachovi, PhD. za pomoc při zpracování statistiky a její kontrolu. Mé díky patří i celé mojí rodině, která při mně stála a která vždy v lese trpělivě čekala, až si vše otestuji a vyfotím.

Anotace

VAŘEJČKOVÁ, S. *Makrochemické reakce exsudátů plodnic hub*. Hradec Králové, 2018. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce Mgr. Jan Wipler. 52 s.

Předmětem bakalářské práce je v rešeršní části teoreticky zhodnotit poznatky o rodech či druzích hub, jejichž plodnice gutují nebo produkují latex. V experimentální části vlastní studie je cílem zjistit, jestli by vlastnosti těchto tekutin konkrétních rodů a druhů mohly sloužit jako spolehlivý mezirodový, případně mezidruhový determinační znak. Dalším cílem je zjistit, jestli výsledné hodnoty budou odrážet ekologické a geologické poměry naleziště plodnice. Data budou získávána v terénu v průběhu roku 2017 pomocí vybraných rychlých makrochemických testů, které dosud v mykologické praxi nejsou uplatňovány nebo se u daných druhů nepoužívají. Výsledky budou seskupeny v logické celky a hodnoceny statistickými testy.

Klíčová slova

gutace, latex, exsudáty, makrochemická reakce

Annotation

VAŘEJČKOVÁ, S. *The macrochemical reactions of fungal fruiting bodies exudates*. Hradec Králové, 2018. Bachelor Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor Mgr. Jan Wipler. 52 p.

The bachelor thesis subject is the theoretical evaluation of knowledges about fungal genera and species its fruiting bodies makes a guttation or produces the latex. The target of the experimental research part is the finding out, if the features of these fluids can be reliably used for genera and species determination. The next target highlights to possibility of these fluid character that maybe reflects the ecological and geological habitat conditions. The data will be collected during 2017 by the fast specific macrochemical tests, that have not been used in mycological practice yet or that recently are not used for these chosen species. The results will be clustered in logical units and it will be interpreted by the statistical tests.

Keywords

guttation, latex, exudates, macrochemical reaction

Obsah

1	ÚVOD.....	9
2	TEORETICKÁ ČÁST	11
2.1	EXSUDÁTY HUB.....	11
2.2	GUTACE HUB	11
2.2.1	<i>Faktory ovlivňující gutaci.....</i>	<i>12</i>
2.2.2	<i>Gutující druhy</i>	<i>13</i>
2.2.3	<i>Schopnost gutace.....</i>	<i>14</i>
2.2.4	<i>Barva gutace a její chemické složení.....</i>	<i>15</i>
2.2.5	<i>Význam gutace hub pro člověka.....</i>	<i>16</i>
2.3	LATEX U HUB.....	16
2.3.1	<i>Latex produkujející druhy.....</i>	<i>17</i>
2.3.2	<i>Barva latexu a jeho chemické složení.....</i>	<i>17</i>
2.3.3	<i>Změna barvy latexu na vzduchu</i>	<i>18</i>
2.3.4	<i>Význam latexu pro člověka.....</i>	<i>19</i>
2.4	MAKROCHEMICKÉ TESTOVÁNÍ HUB	19
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	21
3.1	METODIKA PRÁCE	21
3.1.1	<i>Materiály.....</i>	<i>21</i>
3.1.2	<i>Přístrojová technika</i>	<i>21</i>
3.1.3	<i>Použité programy.....</i>	<i>22</i>
3.1.4	<i>Vybrané lokality sběru testovaných druhů.....</i>	<i>22</i>
3.1.5	<i>Odběr vzorků</i>	<i>24</i>
3.1.6	<i>Soubor testovaných hub.....</i>	<i>25</i>
3.1.7	<i>Vyhodnocení reakce.....</i>	<i>26</i>
3.1.8	<i>Stanovení hypotéz.....</i>	<i>26</i>
3.2	VÝSLEDKY.....	27
3.2.1	<i>Makrochemické reakce exsudátů</i>	<i>27</i>
3.2.2	<i>ITEST oxidáza.....</i>	<i>32</i>
3.2.3	<i>pH exsudátů po lokalitách</i>	<i>33</i>
3.2.4	<i>Statistické vyhodnocení hypotéz.....</i>	<i>37</i>
4	DISKUZE.....	40

5	ZÁVĚR	43
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44
7	PŘÍLOHY.....	48

1 Úvod

Houby jsou typické heterotrofní absorptivní výživou. V ekosystému mají funkci saprotrofní, mykorhizní nebo parazitickou. Na houby a jejich výskyt v přírodě má velký vliv nejen makroklima oblasti, kde rostou, ale i mezoklima konkrétního biotopu a mikroklima v místě výskytu. Mezi dílčí faktory, které určují výskyt makromycetů v přírodě, patří přítomnost mykorhizního partnera nebo hostitele, vhodný, často specifický substrát, typ a množství humusu v půdě, množství vody, obsah živin v půdě, fyzikální vlastnosti podloží a půdy, chemismus podloží a pH substrátu (Holec 2006).

Práce se zaměřuje na nepříliš prozkoumanou problematiku exsudátů hub (gutací a latexu). Není zcela jasné proč houby gutují nebo naopak negutují, za jakých místních a meteorologických podmínek, jaké vlastnosti gutace vykazují, ani to, jestli se jejich složení s druhem mění. Jsou to právě gutace, které nás svoji neprobádaností přivedly k samotnému tématu bakalářské práce.

Cílem bakalářské práce je zjistit, zda si houby, konkrétně exsudáty hub, uchovávají pH, a to i v případě, že rostou na rozdílných substrátech. Zajímá nás, zda se chemismus podloží podílí i na vlastnostech latexu či gutace. Dalším cílem je zjistit, zda makrochemické reakce exsudátů s vybranými chemickými látkami mohou poukázat na mezirodové či mezidruhové rozdíly. Tyto zjištěné odchylky by mohly do budoucna sloužit jako determinační znaky mezi skupinami i jednotlivými druhy navzájem. Je tedy možné, že právě schopnost gutace bude důležitým znakem pro vylišení jednotlivých druhů v rámci jednoho druhového komplexu, jako tomu bylo například v případě schopnosti gutace *Fomitopsis pinicola* z Estonska a Newfoundlandu (Parmasto et Voitek 2010).

Experimentální část byla realizována v terénu od června do listopadu roku 2017. Exsudáty hub byly testovány na více lokalitách přímo v terénu. Přílohou této bakalářské práce je i malý fotoatlas nalezených plodnic, aby bylo možno porovnat i barevný vzhled latexu a gutací plodnic různých druhů hub.

Přínosem této práce má být průkaz makrochemických reakcí exsudátů hub s různými chemickými činidly, jaké známe u dužniny, a jejich porovnání. Výsledky by mohly ukázat další cestu v mykologické identifikaci plodnic přímo v terénu.

2 Teoretická část

2.1 Exsudáty hub

Mykorhizní houby jsou schopny měnit půdní prostředí svými exsudáty, čímž přispívají ke změně rostlinného společenstva. Rostlinný pokryv ale sám o sobě má vliv na půdní strukturu a složení, což do jisté míry ovlivňuje i výskyt mykorhizních druhů hub (Gryndler, 2004).

Latex jako exsudát produkují plodnice některých druhů hub až po pohmoždění (Moore 1998). Naopak gutace hub nejsou vylučovány následkem poškození houbového pletiva. Oba tyto exsudáty se liší svými vlastnostmi mezi sebou i napříč jednotlivými druhy.

2.2 Gutace hub

Gutace je odvozená od slova *gutta* (*gutta* = kapka). Rostliny se tímto způsobem zbavují přebytečné vody a rozpuštěných minerálů. Jsou zde také rozpuštěny organické sloučeniny, např. sacharidy, aminokyseliny, ale také odpadní toxické látky. Výdej vody rostlinou je regulován hydrostatickým tlakem v cévách vodivých pletiv pomocí mikroskopických otvorů (hydatod) nejčastěji na okrajích listů. Rostliny gutují nejčastěji v noci a časně ráno při poklesu teploty a nasycení vzduchu vodními parami (Patočka et Burle 2013).

Gutace je častá i u hub. Podle Hagary je gutace vylučování bezbarvých nebo zbarvených kapek na povrchu mladších plodnic některých druhů hub, které se projevuje pouze za vlhkého počasí (Hagara 2015).

U bělochoroše slzícího (*Postia guttulata*) se gutace objevuje na spodní části plodnice a nejvíce na okraji klobouku, tedy v místech přírůstku nových buněk (Patočka et Burle 2013). Některé houby gutují tak silně, že jim patrně podle toho bylo dáno rodové či druhové jméno, takovými příklady jsou bělochoroš slzící (*P. guttulata*), rod slzivka (*Hebeloma*) nebo pláčivka (*Lacrymaria*) či slizobedla slzivá (*Limacella guttata*).

O gutaci hub nebylo dosud mnoho zjištěno. Má zřejmě stejný význam jako u rostlin. Předpokládá se, že jde spíše o pasivní proces, než o aktivní odpověď organismu na stresové podněty. Gutace, zejména na myceliu, může mít funkci komunikační (s mykorrhizní rostlinou či kooperativním druhem houby) a ochrannou. Gutační tekutina může přilákat i jiné půdní organismy. Pravděpodobně také slouží jako výživa mycelia a zároveň způsob disperze (Formann 2016).

McPhee uvádí předpoklad, že má gutace vliv i na vývoj spor. V určité fázi vývoje jsou gutační kapky dokonce sporama obaleny (McPhee et Colotelo 2011). Toto potvrzuje i Thornhill (2014), který viděl gutaci u rodu *Inonotus glomeratus* ještě i poté, co začal uvolňovat žluté spory. Není tedy pravdou, že plodnice gutují jen do doby dozrání spor, jak se předpokládalo.

Gutační kapka by mohla sloužit i jako zásobník vedlejších metabolických produktů či vody. U druhu *Suillus bovinus* se v laboratoři ukázalo, že reabsorbuje ze své gutační tekutiny některé živiny, zatímco jiné, méně užitečné (např. kyselinu šťavelovou) skladuje (Thornhill 2014).

Stejně tak je možné, že důvody pro vznik gutace a její využití se mohou napříč druhy měnit (Thornhill 2014).

Zdá se tedy, že vzhled gutace může mít vliv na translokaci živin, enzymů, sekundárních metabolitů a prvků v rámci samotného houbového organismu i v rámci hostitelské rostliny. U *Paxillus involutus* byly naměřené vysoké hodnoty olova v gutační tekutině po kultivaci na mediu, které bylo tímto těžkým kovem obohaceno. Gutace tedy může být cesta detoxikace houbového organismu (Formann 2016).

2.2.1 Faktory ovlivňující gutaci

Faktory, které stimulují tvorbu gutace jsou vysoká relativní vlhkost vzduchu, vyšší teplota vzduchu, nebo naopak pokles teploty na 0 °C, obsah O₂. Kvantitativně i kvalitativně závisí na věku plodnice. Základem se zdá být i změna permeability plazmatické membrány (Sprecher 1959).

Naopak inhibující faktory gutace mohou být stresové situace jako například stálé umělé světlo, aplikace fungicidu strobilurinu nebo ionty stříbra (Formann 2016). Pereira testoval gutaci u *Suillus bovinus* jako zdroj antioxidantů. Výsledkem studie bylo zjištění, že expozice kombinaci faktorů světlo/ tma a teplota (18 nebo 25 °C) mají vliv nejen na tvorbu antioxidantů, ale i na samotnou gutaci. Při teplotě 18 °C a stálé expozici na světle byla zaznamenána nejnižší rychlost růstu a nejmenší objem gutační tekutiny. Tyto podmínky naopak vedly ke zvýšení antioxidační aktivity gutační tekutiny (Pereira et al. 2012).

2.2.2 Gutující druhy

Gutace je patrná u chorošovitých (viz Tab.1), kornatcovitých (viz. Tab.2), lošákovitých a hřibovitých hub (viz Tab.3). Ochotně gutují i některé druhy holubinek a ryzců.

Latinský název	čeleď	hostitelská dřevina	barva gutace
<i>Antrodia sitchensis</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	smrk, jedle	čirá
<i>Auriporia aurulenta</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	smrk, jedle, borovice, buk	čirá/medově žlutá
<i>Dacryobolus sudans</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk	čirá
<i>Fomitopsis iberica</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk, buk	žlutá
<i>Fomitopsis pinicola</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk, ovocné str.	čirá/medově žlutá
<i>Fomitopsis rosea</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	smrk, jedle	čirá
<i>Ichnoderma benzoinum</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk, jedle	jantarově žlutá
<i>Ichnoderma resinosum</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. buk	jantarově žlutá
<i>Laetiporus sulphureus</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	vrba, dub, peckovice	čirá
<i>Phaeolus schweinitzii</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. borovice	žlutá/rezavě hnědá
<i>Postia guttulata</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk	čirá
<i>Postia placenta</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk	čirá/medově žlutá
<i>Postia ptychogaster</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk	čirá
<i>Postia rennyi</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk	čirá
<i>Postia sericeomollis</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk	čirá
<i>Postia stiptica</i>	<i>Fomitopsidaceae</i>	zejm. smrk	mléčně zkalená
<i>Fomes fomentarius</i>	<i>Polyporaceae</i>	zejm. buk, bříza	čirá
<i>Hapalopilus croceus</i>	<i>Polyporaceae</i>	dub, kaštanovník	čirá
<i>Perenniporia fraxinea</i>	<i>Polyporaceae</i>	zejm. akát, jasan	čirá
<i>Perenniporia narymica</i>	<i>Polyporaceae</i>	habr, buk, topol, vrba	čirá

Tab. 1: Gutace chorošovité, troudnatcovité, čeledě Hagara (2015)

Latinský název	čeleď	hostitel/ substrát	barva gutace
<i>Amylostereum areolatum</i>	<i>Amylostereaceae</i>	zejm. smrk	žlutooranžová
<i>Heterobasidion annosum</i>	<i>Bondarzewiaceae</i>	zejm. smrk	čirá/medově žlutá
<i>Fistulina hepatica</i>	<i>Fistulinaceae</i>	zejm. dub	krvavě rudá
<i>Gloeophyllum odoratum</i>	<i>Gleophyllaceae</i>	zejm. smrk	čirá
<i>Hericium coralloides</i>	<i>Hericiaceae</i>	zejm. buk	jantarově žlutá
<i>Inonotus hispidus</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	zejm. jabloň, ořešák	čirá/medově žlutá
<i>Pseudoinonotus dryadeus</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	dub, jedle	žlutooranžová
<i>Phellinus conchatus</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	zejm. vrba	čirá
<i>Phellinidium pouzari</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	jedle	medově žlutá
<i>Hyphoderma argillaceum</i>	<i>Meruliaceae</i>	smrk, jedle, buk, olše	medově žlutá
<i>Abortiporus biennis</i>	<i>Meruliaceae</i>	zejm. jehličnany	červená
<i>Peniophora guercina</i>	<i>Peniophoraceae</i>	zejm. dub	žlutooranžová
<i>Rhodotus palmatus</i>	<i>Physalacriaceae</i>	jilm	krvavě rudá
<i>Serpula lacrymans</i>	<i>Serpulaceae</i>	smrk, technicky opracované dřevo jehličnanů	nažloutlá
<i>Schizophyllum commune</i>	<i>Schizophyllaceae</i>	zejm. listnáče	čirá
<i>Stereum rugosum</i>	<i>Stereaceae</i>	zejm. bříza, buk, habr	žlutooranžová
<i>Stereum sanguinolentum</i>	<i>Stereaceae</i>	zejm. smrk	rezavě oranžová
<i>Stereum ochraceoflavum</i>	<i>Stereaceae</i>	zejm. dub	čirá
<i>Conferticium ochraceum</i>	<i>Stereaceae</i>	zejm. smrk, jedle	čirá

Tab. 2: Gutace kožovkovité, pevníkovité Hagara (2015)

Latinský název	čeleď	partnerská dřevina	barva gutace
<i>Suillus grevillei</i>	<i>Suillaceae</i>	modřín	čirá
<i>Suillus granulatus</i>	<i>Suillaceae</i>	borovice	mléčně zkalená
<i>Hydnellum peckii</i>	<i>Bankeraceae</i>	smrk, borovice	krvavě rudá
<i>Hydnellum ferrugineum</i>	<i>Bankeraceae</i>	borovice, smrk, jedle	krvavě rudá

Tab. 3: Gutace hřibovité, lošákovité, čeledě Hagara (2015)

2.2.3 Schopnost gutace

Dosud nebylo zjištěno, zda mají všechny houby schopnost gutovat. Studie troudnatce pásovaného (*Fomitopsis pinicola*) ukázaly, že tento druhový komplex je souborem alespoň třech morfologicky stejných druhů (jednoho z Evropy a dvou ze Severní Ameriky). Zatímco pro populaci v Estonsku je charakteristické, že gutuje běžně a že gutace je kyselá, populace v Newfoundlandu běžně negutuje. Je tedy možné, že genetická informace kódující gutaci u *Fomitopsis pinicola* z Newfoundlandu chybí (Parmasto et Voitek 2010).

2.2.4 Barva gutace a její chemické složení

Většina hub produkuje číré kapky (viz. Obr. 1), většinou viskóznější než je voda, což také poukazuje na přítomnost i jiných chemických látek. Gutace některých druhů hub jsou naopak pestře zbarveny (viz. Obr. 2), obsahují totiž organické pigmenty. U lošákovce palčivého (Obr. 2) byla zjištěna přítomnost terfenylchinonů a atromentinu, který má podobné účinky jako heparin. Naopak pevník krvavějící v příhodných podmínkách vylučuje pouze číré kapky, ačkoliv plodnice obsahuje červený latex, barvivo není gutací vylučováno (Parmasto et Voitek 2010).



Obr. 1: gutace *Fomitopsis pinicola*

Obr. 2: gutace *Hydnellum peckii*

Hutwimmer et al. testovali nutriční podmínky gutace u entomofilní askomycety *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* na různých médiích. Ke gutaci docházelo pouze na mediu s více než jedním zdrojem uhlíku a byla závislá na poměrech cukrů trehalózy a arabinózy. Gutační tekutina obsahovala mykotoxin destruxin A, B a E. Tyto destruxiny byly nalezeny i v agaru pod myceliem i 2 cm od hrany kolonie. HPLC analýza (vysokoúčinná kapalinová chromatografie, separační metoda) ukázala, že se gutace na různých médiích nelišila obsahem cukrů a kyselin (Hutwimmer et al. 2010).

U dalších askomycet jako jsou *Claviceps purpurea*, *Myrothecium roridum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* a *Thanatephorus cucumeris* ukázaly chemické analýzy exsudátů přítomnost kyselá fosfatázy, β -glukosidázy, proteázy, celulázy, kyseliny šťavelové a amoniaku (Colotelo 1978).

U druhů *Penicillium nordicum* a *Penicillium verrucosum* byly z gutačních kapek izolovány vysoké koncentrace mykotoxinů ochratoxinu A i B (Gareis et Gareis 2007).

Penicilin byl nalezen v gutačních kapkách rodu *Penicillium* v podobných koncentracích, jaké byly nalezeny v kultivačním médiu. U *Aspergillus fumigatus* byl v gutaci nalezen gliotoxin, který má imunosupresivní vlastnosti (Thornhill 2014).

2.2.5 Význam gutace hub pro člověka

Barva gutace slouží do jisté míry jako determinační znak. Barevné kapky některých druhů hub jsou zdrojem několika pigmentů. Atromentin je sekundární metabolit, který byl nalezen v roce 1965 u lošákovce palčivého (*Hydnellum peckii*). Později byl detekován také u jiných makromycet např. u strmělky *Clitocybe subilludens* či plesňáku *Thelephora aurantiotincta*. Zdá se, že tento pigment je ve vyšších houbách velmi rozšířen a slouží jako prekurzor dalších pigmentů, např. modrého gyrocyaninu (Patočka 2011). Významným zjištěním posledních let je, že atromentin vyvolává apoptózu u buněčné linie lidské leukemie U937 (Jin Hee et Lee 2009).

2.3 Latex u hub

Latex se stává viditelným v okamžiku, je-li plodnice pohmožděna (Verbeken et Nuytinck 2013). Latex jako cis – polyisopren byl izolován a indentifikován u rodů *Lactarius* a *Peziza* již v polovině 20. století.

Mléko ryzců je tekutinou, která vzniká splýváním obsahu vasiformních hyf, tzv. mléčnic, z nichž se po mechanickém přerušení vylévá. Mléčnice ryzců jsou nepravidelně vinuté, bohatě větvené, s měnícím se průsvitem (varikosní) a s žádnými či ojedinělými přepážkami se světlolomným obsahem (Herink 1956). Přítomnost mléčnic, neboli laktiferních hyf, které u rodu *Lactarius* produkují latex, je zároveň determinačním znakem odlišující ryzce od holubinek (Buyck et al. 2008).

Ohya (1997) předpokládá, že isopentenylidifosfátová aktivita, která byla u rodu *Lactarius* objevena, se podílí na syntéze latexu.

2.3.1 Latex produkující druhy

Produkce latexu není jen výsadou rodu *Lactarius*, některé další druhy jsou uvedeny tabulce (viz Tab. 4)

Druh	substrát	barva latexu
<i>Lactarius sp.</i>	různý	různá
<i>Mycena crocata</i>	opad listnatých lesů	šafránově oranžová
<i>Mycena erubescens</i>	na živých kmenech listnáčů	bezbarvá
<i>Mycena galopus</i>	mech, vlhčí místa	bílá
<i>Mycena haematopus</i>	dřevo listnáčů	červená
<i>Mycena sanguinolenta</i>	opad smrčin	vínově červená
<i>Peziza depressa</i>	obnažená půda	berbarvá
<i>Peziza michelii</i>	listnaté lesy	vodnatý, žlutne
<i>Peziza saniosa</i>	mech, pod listnáči	modravá
<i>Peziza succosa</i>	různý	sírově žlutá
<i>Peziza succosella</i>	listnaté lesy, spáleniště	žlutozelená
<i>Stereum gausapatum</i>	dřevo zejm. dubů	červená
<i>Stereum rugosum</i>	dřevo listnáčů	červená
<i>Stereum sanguinolentum</i>	jehličnany	červená

Tab. 4: Latex produkující druhy

2.3.2 Barva latexu a jeho chemické složení

Barva latexu je důležitým makroskopickým určovacím znakem ryzců. Bílé, bělavé nebo smetanové mléko mají ryzec černohlávek (*L. lignyotus*), r. šeredný (*L. turpis*), r. kravský (*L. tomentosus*), r. datlí (*L. picinus*), r. dubový (*L. quietus*). Mléko může být i oranžové u ryzce osmahlého (*L. quieticolor*), r. smrkového (*L. deterrimus*) nebo krvavě červené u ryzce krvomléčného (*L. sanguifluus*) (Socha et al. 2015).

Tanaka (Tanaka et al. 1994) uvádí, že např. latex ryzce zlatomléčného *Lactarius chrysorrheus* je tvořen nejen cis-isopren jednotkami, kterých je 160-300, ale také dvěma trans-isopren jednotkami.

Tanaka (Tanaka et al. 1994) uvádí, že obsah tekutého latexu plodnic rodu *Lactarius* může tvořit 0,1-7 % sušiny. Nejvíc mléka obsahují mladé plodnice, zatímco ve starších plodnicích může téměř chybět. Poměrně hojně mléka obsahují plodnice ryzce ostrého (*L. acris*), r. d'ubkovaného (*L. scrobiculatus*), r. syrovinky (*L. volemus*), r. kravského (*L. tomentosus*). Středně hojně mléko najdeme u ryzce lososového (*L. salmonicolor*) a r. růžového (*L. roseozonatus*). Málo mléka mají plodnice ryzce

hnědého (*L. helvus*), r. lilákového (*L. lilacinus*), r. klamného (*L. decipiens*) (Socha et al. 2015).

Wijnberg (1999) izoloval dva 2,3-dihydro-1-benzoxepin deriváty z latexu helmovky mléčné *Mycena galopus*.

2.3.3 Změna barvy latexu na vzduchu

Důležitým diagnostickým znakem je i změna barvy latexu. U některých druhů k tomu dochází pouze v kontaktu s dužninou (u ryzce černohlávka, r. vodnatého, r. pýřitého), u jiných dochází ke změně barvy na vzduchu (u ryzce bledého, r. smrkového, r. zlatomléčného, r. d'ubkovaného) (Socha et al. 2015).

U ryzce pravého *L. deliciosus* bylo zjištěno, že za změnu barvy po poranění plodnice mohou metabolity, konkrétně seskviterpeny azulenového typu (Ayer et Trifonov 1994).

Bergendorff uvádí, že v neporušených plodnicích *L. deliciosus* a *L. deterrimus* se nachází dva estery mastných kyselin. Po poranění se během pár minut estery mění v pět volných seskviterpenů (Bergendorff et Sterner 1988).

Neporušená těla *L. fuliginosus* a *L. picinus* obsahují ester kyseliny stearové. Při expozici vzduchu se ester mění na fenol, který postupně oxiduje na směs červených pigmentů benzofuranu a chromenu. Tyto chemické reakce se podílejí nejen na změně barvy latexu, ale i na chuti (De Bernardi et al. 1992).



Obr. 3: Latex ryzce kafrového (*Lactarius camphoratus*)

2.3.4 Význam latexu pro člověka

Latex je se všemi svými vlastnostmi (chutí, barvou, změnou barvy na vzduchu) zejména dobrým determinačním znakem. Chuť latexu navíc u rodu *Lactarius* spolu s chutí dužniny ukazuje na jedlost druhu (Socha et al. 2015).

2.4 Makrochemické testování hub

Barevný účinek některých chemických činidel na dužninu holubinek zaznamenali a prvně použili L. Arnould a A. Goris, zejména však R. Maire. Čeští mykologové V. Melzer aj. Zvára tato činidla využili v systematice k přesnějšímu ohraničení některých podsekcí tohoto rodu. Mezi nejčastěji používané chemikálie patří 10% vodný roztok FeSO_4 , 30% vodný roztok KOH nebo NaOH, 2% vodný roztok fenolu, formalín (40% vodný roztok formaldehydu), NH_4OH , alfa-naftol, guajaková tinktura, anilin, sulfovanilin, benzidin. U holubinek se tyto reagenty kapou na povrch třeně či pokožku klobouku nebo řeznou plochu čerstvé plodnice. V případě sulfovanilinu je možné použít plodnici již usušenou (Socha et al. 2011).

Battistin (2011) zkoušel testovat *Russula camarophylla* a najít rozdíl mezi podobnou *R. archaeosuberis*. Z výsledku vyplývá, že silná pozitivní reakce proběhla u naftolu, HNO_3 , zelené skalice a metholu. Zatímco žádné či velmi slabé reakce byly zaznamenány u KOH, NaOH, toluenu, acetonu, amoniaku. Tento experiment však neprokázal signifikantní rozdíl a bude tedy potřeba dalších pokusů, aby se podařilo objasnit rozdíl mezi těmito dvěma druhy.

Socha uvádí, že při určování ryzců se používají zejména 20% vodný roztok KOH, 10% vodný roztok zelené skalice a guajaková tinktura. S KOH reaguje dužnina a mléko ryzce šeredného červeno-purpurovou reakcí, žlutooranžově se zbarví mléko ryzce zelenajícího. Se zelenou skalicí reaguje ryzec odporný tmavě šedou reakcí, zatímco lososově růžově se barví ryzec Bertillonův a r. zelenající. Guajaková tinktura vyvolává pomalou nazelenalou reakci u dužniny ryzce hnědoskvrnitého a r. vodnatého, rychlou tmavozelenou reakci u ryzce pásovaného, olivově zelenou reakci u ryzce lilákového a zelenomodrou reakci u ryzce křídlatovýtrusého (Socha et al. 2015).

Herink (1956) testoval makrochemické reakce mléka ryzců s guajakovou tinkturou, 10% FeSO₄, 5-10% NaOH, s koncentrovanými kyselinami sírovou, dusičnou a chlorovodíkovou, anilinovým olejem, sulfoformolem a sulfovanilinem.

Britská mykologická společnost uvádí makrochemické reakce činidel i s jinými druhy hub: např. reakce KOH s dužninou rodu pavučinec *Cortinarius*, kde může být reakce tmavě hnědá, červená nebo žlutá, u sekce *Leprocybe* reakce s AgNO₃ žlutá, reakce dužniny rodu *Russula* s FeSO₄, guajakem, KOH, NH₄OH, sulfovanilinem, u plaménky *Gymnopilus* barví KOH a NH₄OH povrch klobouku do černa, u rodu pečárka *Agaricus* se provádí Schaefferova reakce (www.britmycolsoc.org.uk).

Nejčastěji používaná činidla pro mikroskopické pozorování jednotlivých částí hub jsou hydroxidy (KOH, NaOH), kongočerveň, laktofenol (kyselina mléčná, fenol, glycerol, destilovaná voda), Lugolův roztok, Melzerovo činidlo a další. Postup přípravy jednotlivých činidel spolu s vhodným využitím uvádí ve své knize Bruno Erb a Walter Matheis (1983).

Reagencie k barevným reakcím dužniny je vhodné si připravit vždy krátce před zahájením sezóny. Chemikálie je lepší uchovávat v chladu v uzavřených lahvičkách s kapátkem. (Socha et al. 2015).

3 Experimentální část

3.1 Metodika práce

3.1.1 Materiály

a) Chemikálie

- fenol (2% vodný roztok)
- FeSO₄ (15% vodný roztok)
- KOH (20% vodný roztok)
- Anilin
- NH₄OH (25% vodný roztok)

b) Pomůcky

lahvičky s kapátkem, plastové terčičky, pH papírky, ITEST oxidáza

c) Literatura k determinaci

autor	název	rok vydání	ISBN
Hagara	<i>Ottova encyklopedie hub</i>	2015	978-80-7451-407-4
Heilmann-Clausen et al.	<i>The Genus Lactarius</i>	1998	87-983581-4-6
Socha et al.	<i>Ryzce: v lese, v kuchyni a s léčivými účinky</i>	2015	978-80-7281-494-7
Bernicchia et Gorjón	<i>Corticiaceae s.l. Fungi europaei 12</i>	2010	978-88-901057-9-1
Bernicchia	<i>Polyporaceae s.l. Fungi Europaei 10</i>	2005	88-901057-5-5

Tab. 5: Literatura k determinaci

3.1.2 Přístrojová technika

- Fotoaparát Canon EOS 450D
- mikroskop Olympus BX60
- GPS navigátor (aplikace Samsung Galaxy S6 edge)

3.1.3 Použité programy

- MS Word
- MS Excel
- Mapy. cz
- Informační systém Geoportál

3.1.4 Vybrané lokality sběru testovaných druhů

Borová

Lokalita se nachází asi 18 km východně od města Hlinsko. Jedná se především o jehličnatý les tvořený borovicemi a smrkem, v malé míře jsou přimíchány břízy či jiné dřeviny. Potenciální přirozenou vegetací pro tuto lokalitu je smrková bučina (*Calamagrostio villosae-Fagetum*). Podkladem jsou migmatizované ruly a migmatity prekambričského nebo paleozoického stáří. Půdním typem je dystrická kambizem (Geoportal).

NPR Boubínský prales

Lokalita se nachází asi 4 km jihozápadně od obce Zátoň (okres Prachatice). Rezervace byla vyhlášena v roce 1858 a je tak druhou nejstarší národní přírodní rezervací v České republice. Většinu porostu (asi 50 %) tvoří smrk ztepilý (*Picea abies*), u něhož klesá počet živých stromů a roste objem mrtvého dřeva. Stejně tak klesá počet živých stromů buku lesního (*Fagus sylvatica*). Jedle bělokorá (*Abies alba*) tvoří méně než 5 % porostu (Vrška et al. 2001). Přirozenou vegetací pro tuto lokalitu je třtinová smrčina (*Calamagrostio villosae-Piceetum*) Podkladem jsou ruly a biotit prekambričského nebo paleozoického stáří. Půdním typem je kambický podzol (Geoportal).

Náchod, Běloves (Les Montace)

Lokalita leží v severozápadní části města Náchod – Bělovsi. Charakteristické jsou smíšené lesy s břízou a modřínem. Potenciální přirozenou vegetací pro tuto lokalitu je bučina s kyčelníci devítilistou (*Dentario enneaphylli-Gagetum*). Podkladem jsou

fylity prekambriického nebo paleozoického stáří. Půdním typem je kyselá kambizem (Geoportal).

Nová Ves

Lokalita se nachází asi 3 km jižně od obce Nasavrky. Jedná se o kombinaci dílčích smrkových lesů s lesy smíšenými či opadavými. Potenciální přirozenou vegetací je biková bučina (*Luzulo-Fagetum*). Podkladem jsou biotity, tonality a křemenné diority variského stáří. Půdním typem je kyselá kambizem (Geoportal).

Jeřičky, polesí V Dubech

Lokalita se nachází asi 1 km severně od středu obce Jeřičky. Jeřičky jsou částí obce Hoříněves, v okrese Hradec Králové. Většinu tvoří opadavý převážně dubový les, na menších plochách jsou smrkové výsadby. Potenciální přirozenou vegetací pro tuto lokalitu je černýšová dubohabřina (*Melampyro nemorosi-Carpinetum*). Podkladem jsou vápnité jílovce, slínovce v menší míře jílovité vápence turonského stáří (svrchní křída). Půdním typem je kambická pelozem (Geoportal).

PR Peklo

Přírodní rezervací byla vyhlášena v roce 1997, v roce 2012 byla vyhlášena Evropsky významnou lokalitou. Předmětem ochrany jsou suťové lesy, květnaté a acidofilní bučiny, šterbinová vegetace silikátových skal a drolin, makrofytní vegetace vodních toků (Zapletal et al. 2013). Potenciální přirozenou vegetací pro tuto lokalitu je bučina s kyčelnicí devítilistou (*Dentario enneaphylli-Gagetum*). Podkladem jsou fylity prekambriického nebo paleozoického stáří. Půdním typem je dystrická kambizem (Geoportal).

Radostov

Lokalitou jsou lesy kolem obce Radostov, která se nachází asi 12 km západně od města Hradec Králové. Převážnou většinu tvoří dubové lesy, na menších částech jsou borové nebo smrkové monokultury. Potenciální přirozenou vegetací pro tuto lokalitu je černýšová dubohabřina (*Melampyro nemorosi-Carpinetum*). Podkladem

jsou vápnité jílovce, slínovce turonského stáří (svrchní křída). Půdním typem je karbonátová pelozem (Geoportal).

Týniště nad Orlicí, Velká Houkvice

Lokalitou sběru plodnic jsou lesy mezi Týništěm nad Orlicí a Petrovicemi a okolí rybníku Velká Houkvice. Jedná se o smíšené lesy s dubem. Potenciální přirozenou vegetací pro tuto lokalitu je střemchová jasenina (*Pruno-Fraxinetum*, místy s *Alnio glutinosae*). Podkladem jsou vápnité jílovce, slínovce turonského – santonského stáří (svrchní křída). Půdním typem je arenická regozem (Geoportal).

Nový Hradec

Lokalitou sběru je dubina v lesích na Novém Hradci. Potencionální přirozenou vegetací je bezkolencová doubrava (*Molinio arundinaceae-Quercetum*). Podklad tvoří vápnité jílovce a slínovce křídového stáří. Půdním typem je arenická regozem.

3.1.5 Odběr vzorků

Odběr vzorků byl prováděn v terénu od června do listopadu 2017. Celkem bylo otestováno 71 vzorků exsudátů, z toho 46 vzorků latexu a 25 gutací. Nalezeno bylo 41 druhů. U plodnic ryzců, kde se odebíral latex, šlo většinou o destruktivní odběr. U druhů s gutací nedocházelo k žádným destrukcím a ani k nutnosti vytržení plodnice, která tak mohla zůstat na svém původním místě. Proto mohly být testovány i druhy s různým stupněm ohrožení (*Hydnellum peckii*, *Phellinus pouzarii*) (Holec 2006).

Odebíráno bylo vždy několik kapek latexu nebo gutace (v závislosti na stáří plodnice, její velikosti a vodní bilanci okolního prostředí). Exsudát byl odebrán buď na plastový terčík, nebo přímo na papírkový test. K jedné kapce exsudátu byla vždy přikápnuta jedna kapka činidla (resp. testovací látky).

3.1.6 Soubor testovaných hub

Celkem bylo otestováno 71 vzorků, z toho 25 gutací (druhy viz. Tab. 6) a 46 vzorků latexu (viz. Tab.7).

Druh	
<i>Fistulina hepatica</i>	<i>Oligoporus stripticus</i>
<i>Fomes fomentarius</i>	<i>Peniophora guercina</i>
<i>Fomitopsis pinicola</i>	<i>Phaeolus schweinitzii</i>
<i>Fomitopsis pinicola</i>	<i>Phaeolus schweinitzii</i>
<i>Fomitopsis pinicola</i>	<i>Phellinidium pouzari</i>
<i>Fomitopsis pinicola</i>	<i>Russula ochroleuca</i>
<i>Fomitopsis pinicola</i>	<i>Russula queletii</i>
<i>Fomitopsis rosea</i>	<i>Schizophyllum commune</i>
<i>Gleophyllum odoratum</i>	<i>Suillus grevillei</i>
<i>Hebeloma sinapizans</i>	<i>Suillus grevillei</i>
<i>Heterobasidion annosum</i>	<i>Suillus grevillei</i>
<i>Hydnellum peckii</i>	<i>Suillus grevillei</i>
<i>Laetiporus sulphureus</i>	

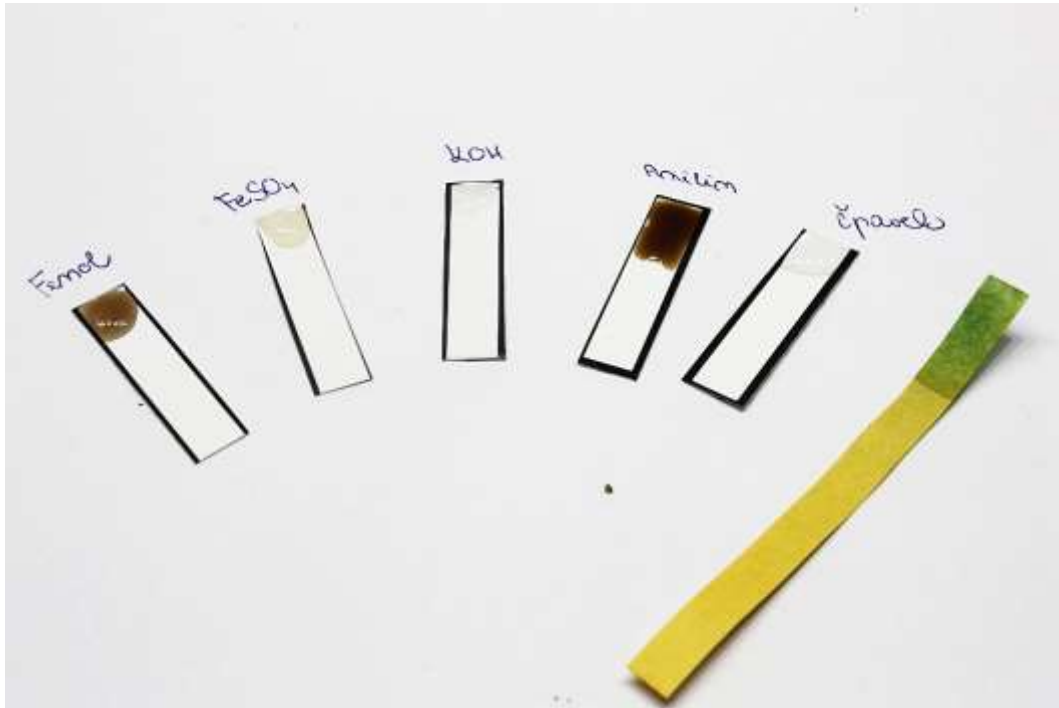
Tab. 6: Gutující druhy

Druh	
<i>Lactarius camphoratus</i>	<i>Lactarius porninsis</i>
<i>Lactarius camphoratus</i>	<i>Lactarius porninsis</i>
<i>Lactarius decipiens</i>	<i>Lactarius pubescens</i>
<i>Lactarius deterrimus</i>	<i>Lactarius quietus</i>
<i>Lactarius deterrimus</i>	<i>Lactarius quietus</i>
<i>Lactarius deterrimus</i>	<i>Lactarius quietus</i>
<i>Lactarius fulvissimus</i>	<i>Lactarius scrobiculatus</i>
<i>Lactarius glaucescens</i>	<i>Lactarius subdulcis</i>
<i>Lactarius helvus</i>	<i>Lactarius subdulcis</i>
<i>Lactarius helvus</i>	<i>Lactarius subdulcis</i>
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	<i>Lactarius subdulcis</i>
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	<i>Lactarius tabidus</i>
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	<i>Lactarius tabidus</i>
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	<i>Lactarius tabidus</i>
<i>Lactarius lignyotus</i>	<i>Lactarius torminosus</i>
<i>Lactarius lignyotus</i>	<i>Lactarius turpis</i>
<i>Lactarius lignyotus</i>	<i>Lactarius turpis</i>
<i>Lactarius lilacinus</i>	<i>Lactarius turpis</i>
<i>Lactarius mammosus</i>	<i>Lactarius turpis</i>
<i>Lactarius obscuratus</i>	<i>Lactarius uvidus</i>
<i>Lactarius pallidus</i>	<i>Lactarius vellereus</i>
<i>Lactarius picinus</i>	<i>Lactarius vellereus</i>
<i>Lactarius picinus</i>	<i>Lactarius vietus</i>

Tab. 7: Latex produkující druhy

3.1.7 Vyhodnocení reakce

Reakce byly vyhodnocovány v terénu cca za 10 minut. Hodnocena byla barevná změna, vznik sraženiny (viz. Obr.4). Rychlost reakce nebyla rozhodující, neboť v chladném či deštivém počasí se výrazně zpomaluje, jakož i u zasychajících plodnic.



Obr. 4: Reakce exsudátu s použitými chemikáliemi

Pokud to bylo možné, a pokud se nacházel v dosahu testování nějaký vodní zdroj, bylo pH změřeno i z něho.

3.1.8 Stanovení hypotéz

H0: Nadmořská výška ovlivňuje pH latexu u testovaných druhů hub.

H0: Nadmořská výška ovlivňuje pH gutace u testovaných druhů hub.

3.2 Výsledky

3.2.1 Makrochemické reakce exsudátů

Makrochemické reakce spolu s údaji o místě nálezů jsou pro jednotlivé druhy uvedeny v tabulkách (viz Tab.9 - Tab. 12b).

Druh	Datum 2017	GPS	nadmořská výška (m n.m.)	pH gutace
<i>Fistulina hepatica</i>	28.8.	50°12'51"N, 15°40'9"E	261	5
<i>Fomes fomentarius</i>	3.6.	48°58'59"N, 13°48'37"E	1090	3,5
<i>Fomitopsis pinicola</i>	3.6.	48°58'22"N, 13°49'1"E	963	3
<i>Fomitopsis pinicola</i>	3.6.	48°58'33"N, 13°48'38"E	1076	2
<i>Fomitopsis pinicola</i>	6.7.	50°23'31"N, 16°13'30"E	562	3
<i>Fomitopsis pinicola</i>	28.7.	49°44'59"N, 16°7'43"E	664	2,5
<i>Fomitopsis pinicola</i>	18.8.	49°45'1"N, 16°7'51"E	663	2
<i>Fomitopsis rosea</i>	3.6.	48°58'22"N, 13°49'1"E	963	4
<i>Gleophyllum odoratum</i>	10.11.	50°10'50"N, 16°2'49"E	252	4
<i>Hebeloma sinapizans</i>	5.10.	50°10'43"N, 15°50'26"E	276	6
<i>Heterobasidion annosum</i>	10.11.	50°9'59"N, 16°4'20"E	257	5,5
<i>Hydnellum peckii</i>	26.9.	50°21'9"N, 15°46'30"E	302	5
<i>Laetiporus sulphureus</i>	17.6.	50°12'57"N, 15°40'8"E	268	3
<i>Oligoporus stripticus</i>	17.9.	50°12'50"N, 15°39'27"E	276	2,5
<i>Peniophora guercina</i>	10.11.	50°9'59"N, 16°4'20"E	257	2,5
<i>Phaeolus schweinitzii</i>	17.6.	50°12'52"N, 15°39'25"E	272	4
<i>Phaeolus schweinitzii</i>	7.9.	50°12'52"N, 15°39'25"E	272	5
<i>Phellinidium pouzari</i>	3.6.	48°58'57"N, 13°48'19"E	1097	3
<i>Russula ochroleuca</i>	18.8.	49°45'0"N, 16°7'57"E	661	6
<i>Russula queletii</i>	18.8.	49°45'0"N, 16°7'57"E	661	6
<i>Schizophyllum commune</i>	10.11.	50°10'55"N, 16°2'45"E	253	6
<i>Suillus grevillei</i>	24.7.	49°50'3"N, 15°48'54"E	527	5,5
<i>Suillus grevillei</i>	24.7.	49°50'3"N, 15°48'54"E	527	5,5
<i>Suillus grevillei</i>	4.8.	50°21'12"N, 15°46'49"E	299	5
<i>Suillus grevillei</i>	3.9.	50°12'52"N, 15°40'14"E	264	5

Tab. 8: Testované gutující druhy

Druh	gutace+ fenol	gutace+ FeSO ₄	gutace+ KOH	gutace+ anilin	gutace+ NH ₄ OH
<i>Fistulina hepatica</i>	x	žlutozelená	krvavá- bordó	hnědozelená	sytě oranžová
<i>Fomes fomentarius</i>					
<i>Fomitopsis pinicola</i>					
<i>Fomitopsis pinicola</i>					
<i>Fomitopsis pinicola</i>					
<i>Fomitopsis pinicola</i>					
<i>Fomitopsis pinicola</i>	x	modrozelená	slabě čajová	x	x
<i>Fomitopsis rosea</i>					
<i>Gleophyllum odoratum</i>	okrová ↓	do žluta ↓	sv. hnědá ↓	x	x
<i>Hebeloma sinapizans</i>	x	x	x		
<i>Heterobasidion annosum</i>	x	sv. žlutá	x	x	x
<i>Hydnellum peckii</i>	oranžovohnědá	hnědá ↓	oranžová	x	žlutá
<i>Laetiporus sulphureus</i>					
<i>Oligoporus stripticus</i>	sv. růžová	slabě zelená	x	x	x
<i>Peniophora guercina</i>	x	x	okrová	x	sv. okrová
<i>Phaeolus schweinitzii</i>					
<i>Phaeolus schweinitzii</i>	sv. růžová	x	x	sv. oranžová	x
<i>Phellinidium pouzari</i>					
<i>Russula ochroleuca</i>					
<i>Russula queletii</i>					
<i>Schizophyllum commune</i>	x	x	x	x	x
<i>Suillus grevillei</i>					
<i>Suillus grevillei</i>					
<i>Suillus grevillei</i>					
<i>Suillus grevillei</i>	x	x	modrošedá	oranžová	bledě modrá

Tab. 9: Makrochemické reakce gutací

Druh	Datum 2017	GPS	nadmořská výška (m n.m.)	pH latexu
<i>Lactarius camphoratus</i>	18.8.	49°45'15"N, 16°7'58"E	663	7
<i>Lactarius camphoratus</i>	9.10.	50°12'53"N, 15°39'30"E	273	6,5
<i>Lactarius decipiens</i>	10.11.	50°10'16"N, 16°3'30"E	254	6
<i>Lactarius fulvissimus</i>	26.9.	50°21'9"N, 15°46'30"E	302	7
<i>Lactarius glaucescens</i>	4.8.	50°21'7"N, 15°46'44"E	296	6
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	5.10.	50°9'32"N, 15°52'1"E	273,5	6,5
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	15.10.	50°12'48"N, 15°39'37"E	271	7
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	4.11.	50°12'48"N, 15°39'37"E	271	7
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	10.11.	50°10'16"N, 16°3'29"E	254	7
<i>Lactarius lilacinus</i>	10.11.	50°10'55"N, 16°2'47"E	253	7
<i>Lactarius mammosus</i>	18.8.	49°45'15"N, 16°7'56"E	664	7
<i>Lactarius pallidus</i>	6.7.	50°21'44"N, 16°10'5"E	346	7
<i>Lactarius porninsis</i>	30.9.	50°25'6"N, 16°11'53"E	405	6
<i>Lactarius porninsis</i>	21.10.	49°49'55"N, 15°49'28"E	508	6
<i>Lactarius pubescens</i>	26.9.	50°21'8"N, 15°46'29"E	299	6
<i>Lactarius scrobiculatus</i>	26.9.	50°21'7"N, 15°46'29"E	297	7
<i>Lactarius torminosus</i>	30.9.	50°25'7"N, 16°11'51"E	389	6
<i>Lactarius turpis</i>	28.7.	49°44'59"N, 16°7'45"E	664	6,5
<i>Lactarius turpis</i>	12.9.	50°12'47"N, 15°39'33"E	273	6
<i>Lactarius turpis</i>	17.9.	50°12'47"N, 15°39'33"E	273	7
<i>Lactarius turpis</i>	26.9.	50°21'9"N, 15°46'31"E	302	7
<i>Lactarius uvidus</i>	26.9.	50°21'9"N, 15°46'31"E	302	7
<i>Lactarius vellereus</i>	4.8.	50°21'7"N, 15°46'45"E	297	7
<i>Lactarius vellereus</i>	21.9.	49°45'0"N, 16°7'50"E	663	7
<i>Lactarius vietus</i>	30.9.	50°25'6"N, 16°11'53"E	405	6

Tab. 10a: Testované mléčící druhy (část 1.)

Druh	Datum 2017	GPS	nadmořská výška (m n.m.)	pH latexu
<i>Lactarius deterrimus</i>	6.7.	50°23'43"N, 16°12'36"E	503	3
<i>Lactarius deterrimus</i>	28.7.	49°44'57"N, 16°7'31"E	672	3,5
<i>Lactarius deterrimus</i>	26.9.	50°21'8"N, 15°46'29"E	299	4
<i>Lactarius obscuratus</i>	6.7.	50°23'43"N, 16°12'36"E	503	6
<i>Lactarius subdulcis</i>	6.7.	50°22'25"N, 16°11'21"E	320	7
<i>Lactarius subdulcis</i>	6.7.	50°21'44"N, 16°10'19"E	391	7
<i>Lactarius subdulcis</i>	25.9.	50°12'45"N, 15°39'29"E	269	7
<i>Lactarius subdulcis</i>	4.11.	50°12'45"N, 15°39'29"E	269	7
<i>Lactarius quietus</i>	6.7.	50°21'32"N, 16°9'50"E	323	6
<i>Lactarius quietus</i>	21.10.	49°49'55"N, 15°49'28"E	508	7
<i>Lactarius quietus</i>	10.11.	50°10'16"N, 16°3'29"E	254	6
<i>Lactarius tabidus</i>	28.7.	49°45'3"N, 16°8'3"E	656	6,5
<i>Lactarius tabidus</i>	18.8.	49°45'15"N, 16°7'56"E	664	6,5
<i>Lactarius tabidus</i>	17.9.	50°12'52"N, 15°39'31"E	273	6
<i>Lactarius lignyotus</i>	28.7.	49°45'3"N, 16°8'3"E	656	6
<i>Lactarius lignyotus</i>	28.7.	49°45'3"N, 16°8'3"E	656	7
<i>Lactarius lignyotus</i>	18.8.	49°45'3"N, 16°8'4"E	653	6
<i>Lactarius helvus</i>	28.7.	49°45'2"N, 16°7'50"E	662	6
<i>Lactarius helvus</i>	18.8.	49°45'15"N, 16°7'56"E	664	6,5
<i>Lactarius picinus</i>	28.7.	49°44'59"N, 16°7'38"E	667	7,5
<i>Lactarius picinus</i>	18.8.	49°45'15"N, 16°7'56"E	664	7

Tab. 10b: Testované mléčící druhy, (část 2.)

Druh	latex+ fenol	latex+ FeSO ₄	latex+ KOH	latex+ anilin	latex+ NH ₄ OH
<i>Lactarius camphoratus</i>	růžová ↓	x ↓	x ↓	x ↓	x ↓
<i>Lactarius camphoratus</i>	růžová ↓	x ↓	x ↓	x	x ↓
<i>Lactarius decipiens</i>	hnědozelená ↓	sv. okrová ↓	smetanová ↓	hnědozelená ↓	x ↓
<i>Lactarius fulvissimus</i>	tmavě hnědá	zelenošedá ↓	x ↓	x	x
<i>Lactarius glaucescens</i>	vínová	šednoucí ↓	žlutooranžová		
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	x ↓	sv. žlutá ↓	sytě oranžová ↓	x ↓	x ↓
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	hnědá ↓	sv. žlutá ↓	bílá ↓	šedá ↓	bílá ↓
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	hnědá ↓	sv. žlutá ↓	sytě oranžová ↓	x ↓	bílá ↓
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	x ↓	sv. žlutozelená ↓	sytě oranžová ↓	šedá ↓	bílá ↓
<i>Lactarius lilacinus</i>					
<i>Lactarius mammosus</i>	okrová	šedohnědá ↓	x ↓	x	x
<i>Lactarius pallidus</i>	sv. hnědá	žlutá ↓	žlutá ↓	x	šedá ↓
<i>Lactarius porninsis</i>	zelená ↓	žlutá ↓	x ↓	x	bílá ↓
<i>Lactarius porninsis</i>	hnědozelená ↓	žlutá ↓	x ↓	x ↓	bílá ↓
<i>Lactarius pubescens</i>	x ↓	x ↓	x	x ↓	x
<i>Lactarius scrobiculatus</i>	x	x	sytě oranžová	x ↓	x ↓
<i>Lactarius torminosus</i>	x ↓	sv. žlutá ↓	x	x	x
<i>Lactarius turpis</i>					
<i>Lactarius turpis</i>	hnědá ↓	žlutá ↓	x	sv. fialová	x
<i>Lactarius turpis</i>	hnědá ↓	žlutá, pleťová ↓	x	sv. fialová	x
<i>Lactarius turpis</i>	tmavě hnědá ↓	žlutá ↓	x	bílá ↓	x
<i>Lactarius uvidus</i>	tmavě hnědá ↓	růžovofialová ↓	x	x	x
<i>Lactarius vellereus</i>	x	sv. modrošedá	x		
<i>Lactarius vellereus</i>	hnědá ↓	krémová ↓	x ↓	bílá ↓	šedá ↓
<i>Lactarius vietus</i>	nazelenalá ↓	žlutohnědá ↓	oranžová ↓	x	x ↓

Tab. 11a: Makrochemické reakce latexu (část 1.)

Druh	latex+ fenol	latex+ FeSO ₄	latex+ KOH	latex+ anilin	latex+ NH ₄ OH
<i>Lactarius deterrimus</i>					
<i>Lactarius deterrimus</i>					
<i>Lactarius deterrimus</i>	hnědá	x	x	x ↓	x ↓
<i>Lactarius obscuratus</i>					
<i>Lactarius subdulcis</i>					
<i>Lactarius subdulcis</i>					
<i>Lactarius subdulcis</i>	sv. hnědá	šedá ↓	x	šedá ↓	šedá ↓
<i>Lactarius subdulcis</i>	sv. hnědá ↓	bílé kafe ↓	x ↓	x ↓	bílá ↓
<i>Lactarius quietus</i>					
<i>Lactarius quietus</i>	kaštanově hnědá ↓	bílé kafe ↓	smetanová ↓	x ↓	x ↓
<i>Lactarius quietus</i>	hnědá ↓	bílé kafe ↓	x ↓	x ↓	x ↓
<i>Lactarius tabidus</i>					
<i>Lactarius tabidus</i>	citronově žlutá ↓	modrošedá ↓	x	x	x ↓
<i>Lactarius tabidus</i>	citronově žlutá ↓	šedá ↓	x ↓	x	x ↓
<i>Lactarius lignyotus</i>					
<i>Lactarius lignyotus</i>					
<i>Lactarius lignyotus</i>	sv. hnědá ↓	šedomodrá ↓	slabě okrová	šedomodrá ↓	x
<i>Lactarius helvus</i>					
<i>Lactarius helvus</i>	sv. hnědá	okrově hnědá ↓	x	šedomodrá ↓	x
<i>Lactarius picinus</i>					
<i>Lactarius picinus</i>	sv. hnědá ↓	šedobílá ↓	x	x	bílá ↓

Tab. 11b: Makrochemické reakce latexu (část 2.)

3.2.2 ITEST oxidáza

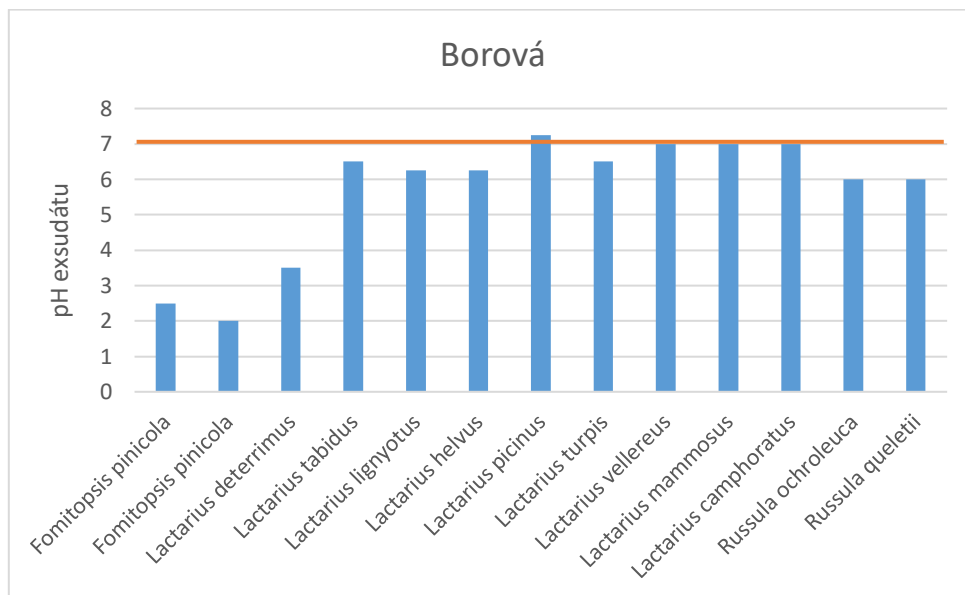
U několika druhů jsme pro zajímavost testovali oxidázovou aktivitu. Výsledky testů jsou shrnuté v tabulce (Tab.13).

Druh	itest oxidaza
<i>Fomitopsis pinicola</i>	negativní
<i>Lactarius deterrimus</i>	pozitivní
<i>Lactarius obscuratus</i>	pozitivní
<i>Lactarius quietus</i>	pozitivní
<i>Lactarius subdulcis</i>	pozitivní
<i>Laetiporus sulphureus</i>	negativní
<i>Phaeolus schweinitzii</i>	pozitivní

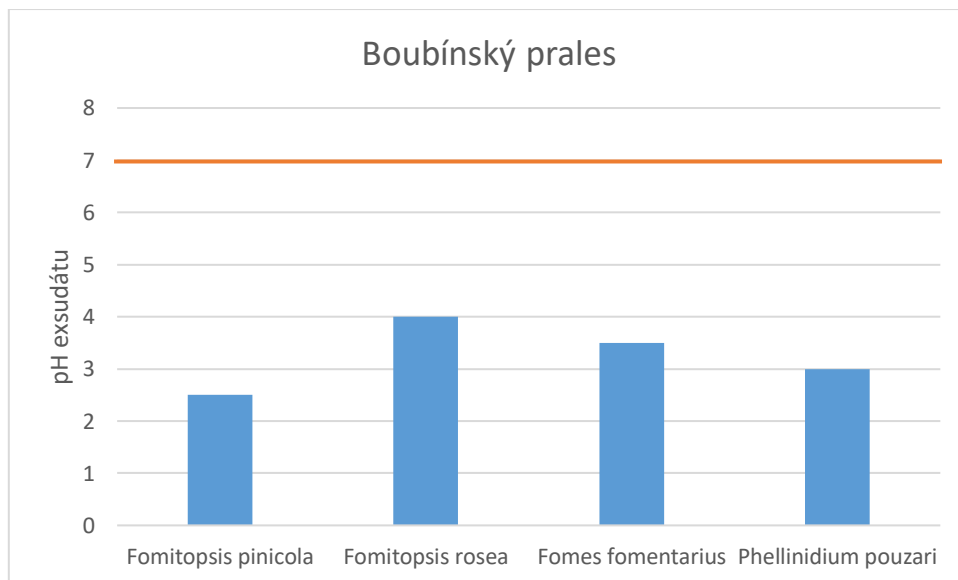
Tab. 12: Oxidázová aktivita exsudátů

3.2.3 pH exsudátů na vybraných lokalitách

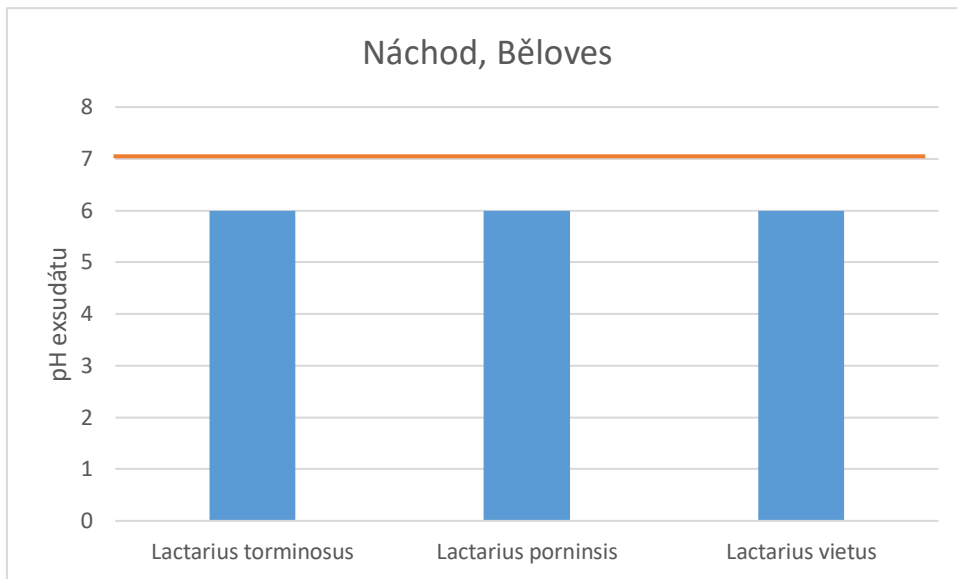
Na vybraných lokalitách bylo měřeno pH exsudátů. Exsudáty vykazovaly převážně kyselou reakci (viz grafy 1-9).



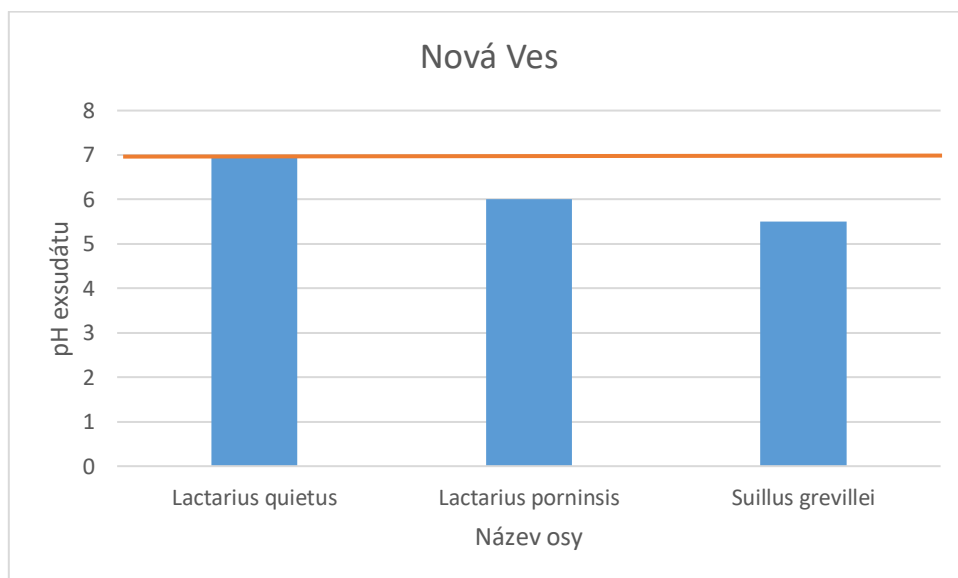
Graf 1: pH exsudátů Borová



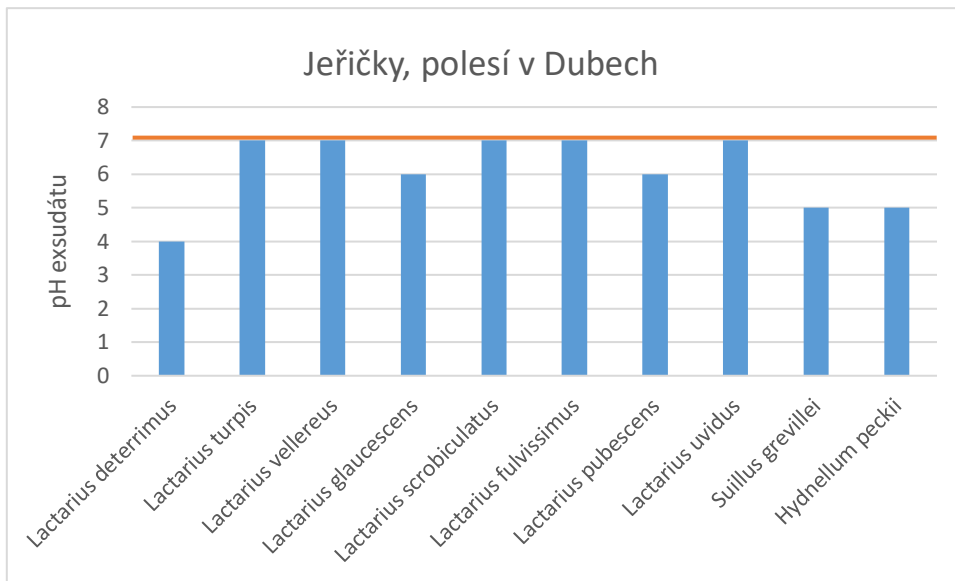
Graf 2: pH exsudátů Boubínský prales



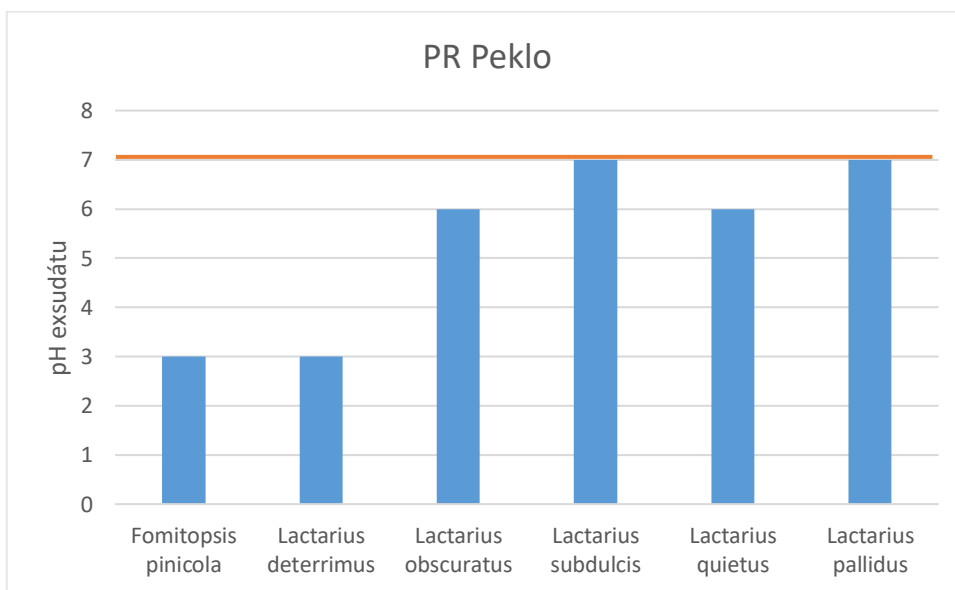
Graf 3: pH exsudátů Náchod, Běloves



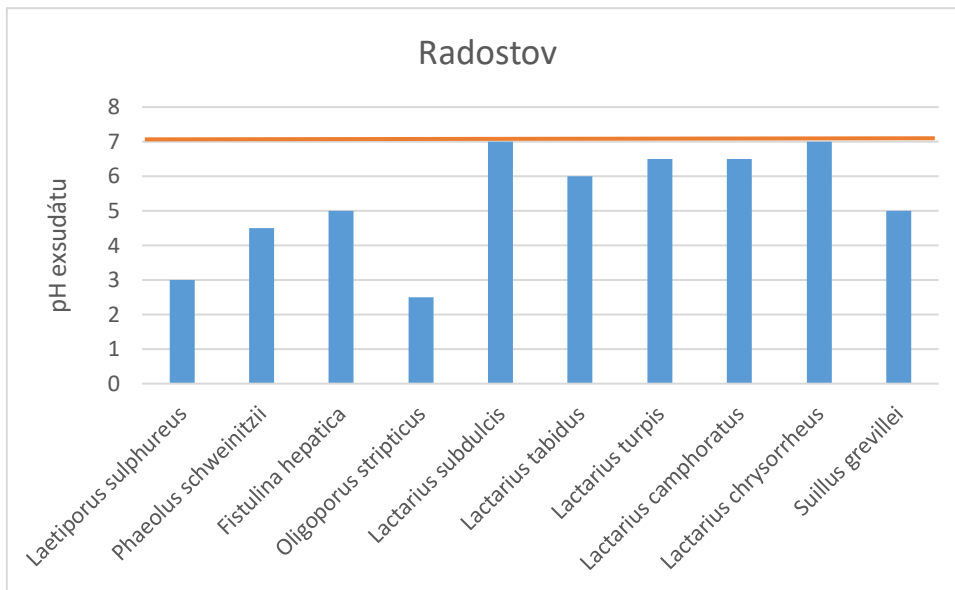
Graf 4: pH exsudátů Nová Ves



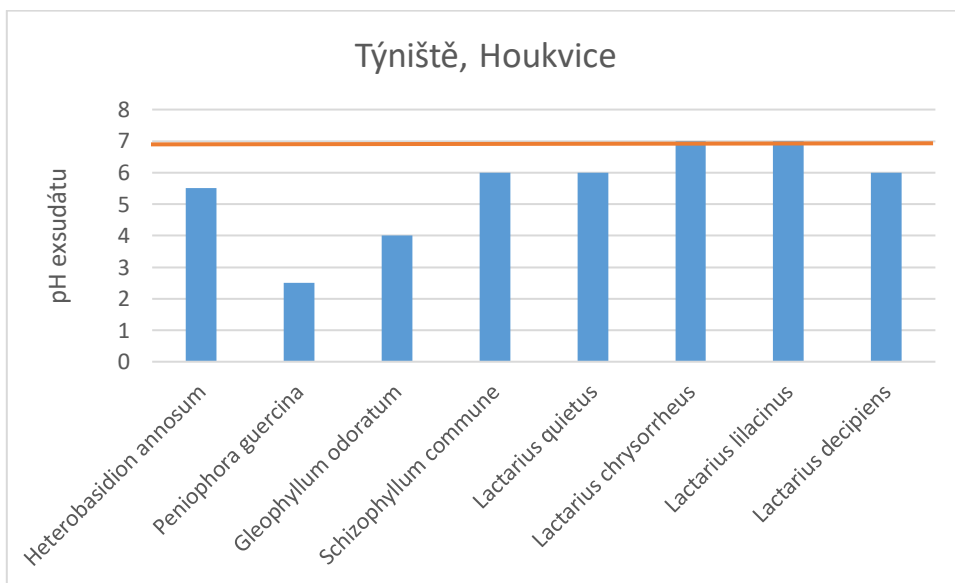
Graf 5: pH exsudátů Jeřičky, polesí V Dubech



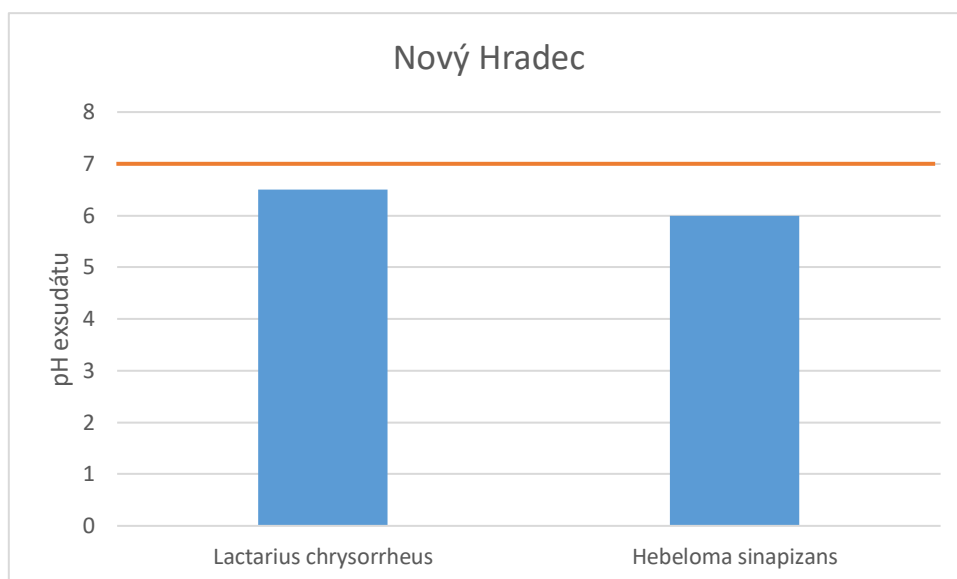
Graf 6: pH exsudátů PR Peklo



Graf 7: pH exsudátů Radostov



Graf 8: pH exsudátů Týniště, Houkvice



Graf 9: pH exsudátů Nový Hradec

3.2.4 Statistické vyhodnocení hypotéz

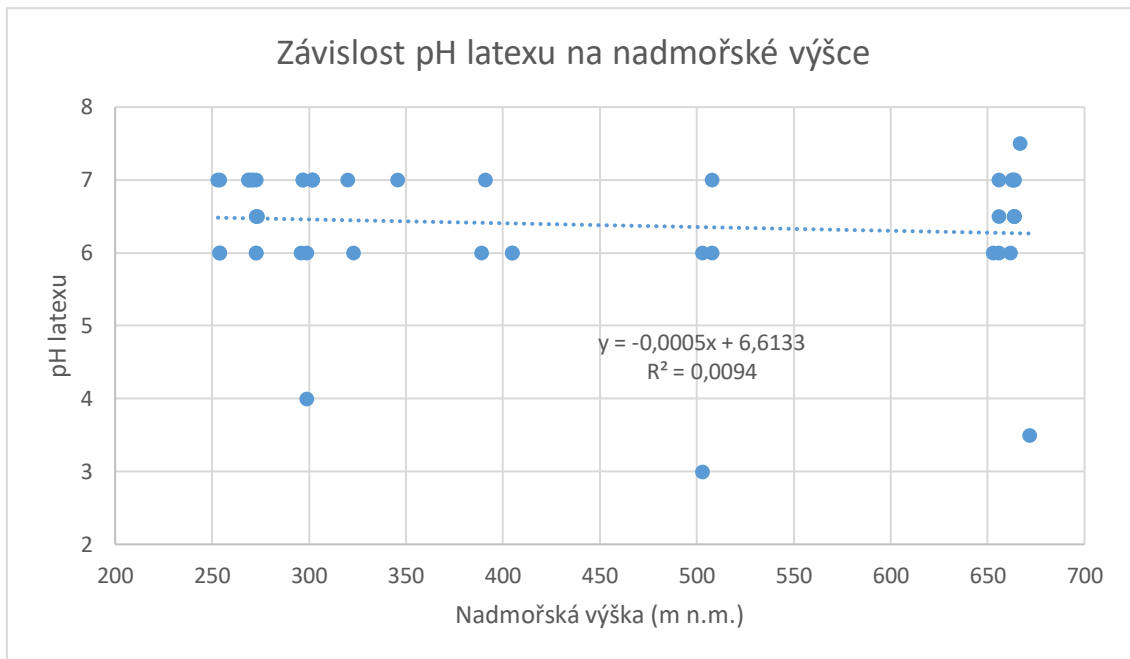
Obě hypotézy byly testovány na 5% hladině významnosti. Data byla hodnocena statistickou metodou Pearsonův korelační koeficient (viz. **Grafy 10 a 11**).

Hypotéza 1

H0: Nadmořská výška ovlivňuje pH latexu u testovaných druhů hub

Pearsonův korelační koeficient **- 0,09704** (bez korelace)

p-hodnota **0,521171**



Graf 10: Závislost pH latexu na nadmořské výšce

Porovnáváme 46 testovaných vzorků latexu ryzců. Zajímá nás závislost pH latexu na nadmořské výšce. V případě průkazu závislosti předpokládáme pokles pH s růstem nadmořské výšky (zejména kvůli změně zastoupení jehličnatých lesů s kyselým opadem a přítomností podkladových kyselých hornin).

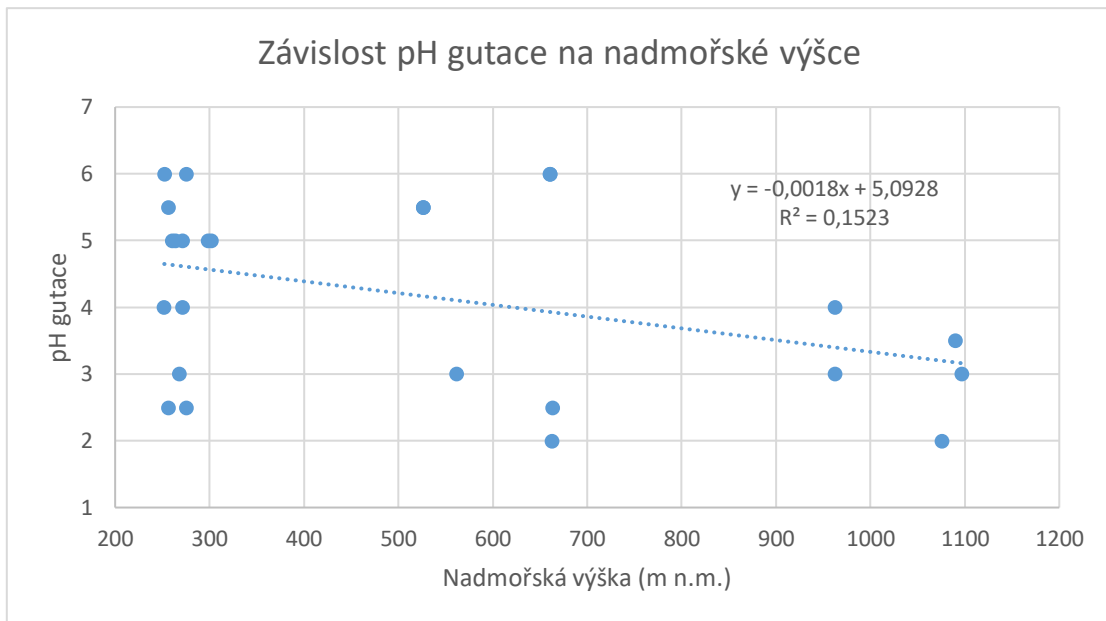
Z výsledků vyplývá, že nulovou hypotézu nelze na 5% hladině významnosti zamítnout. Tedy se tato hypotéza neprokázala.

Hypotéza 2

H0: Nadmořská výška ovlivňuje pH gutace testovaných druhů hub

Pearsonův korelační koeficient **- 0,3903** (0,4-0,6 středně silná korelace)

p-hodnota **0,053748**



Graf 11: Závislost pH gutace na nadmořské výšce

Porovnáváme 25 testovaných vzorků gutací. Rovněž nás zajímá míra závislosti pH na růstu nadmořské výšky. Předpokladem je pokles hodnoty pH s rostoucí nadmořskou výškou (zejména kvůli změně zastoupení jehličnatých lesů s kyselým opadem a přítomností podkladových kyselých hornin).

Z výsledků vyplývá, že nulovou hypotézu rovněž nelze na 5% hladině významnosti zamítnout, avšak je v tomto případě korelace mnohem slibnější. Hypotézu by mohlo podpořit dosbírání dalších vzorků, zejména z vyšší nadmořské výšky.

4 Diskuze

Na jedné plodnici se mohou vyskytovat gutace i více barev (více odstínů) najednou. Mohlo by to souviset s množstvím barviv v kapce. U našeho pozorování, zejména na *Fomitopsis pinicola*, barevnější slza vykazovala nižší hodnotu pH, což může souviset s vyšší koncentrací metabolitů uvnitř této gutační kapky. U gutace pstřeně dubového *Fistulina hepatica* jsme zaznamenali oranžovou a krvavě rudou gutaci. V tomto případě by se mohlo jednat i o částečnou reabsorpci pigmentu zpět do plodnice, jako to bylo popsáno u *Suillus bovinus* v laboratorních podmínkách (Thornhill 2014).

Na tvorbu plodnic má vliv i nadmořská výška (Holec 2006). Je tedy možné, že má vliv i na tvorbu gutací. Se zeměpisnou polohou, a tedy i s nadmořskou výškou se mění množství srážek, které na území spadne. Proto by bylo zajímavé porovnat gutaci plodnic jednoho druhu z úplně jiných zeměpisných šířek. Možná by ale bylo těžké takový druh vůbec najít, protože například v tropech rostou jiné druhy hub než v České republice. Je tedy otázkou, jestli plodnice v tropickém deštném pralese gutují častěji a více, nebo třeba až nepřetržitě (i vzhledem k vysoké vzdušné vlhkosti).

pH exsudátů nadmořskou výškou zřejmě není příliš ovlivňováno. U latexu se změna pH s rostoucí nadmořskou výškou Pearsonovým korelačním koeficientem neprokázala i při dostatečném množství sebraných vzorků. Hodnota pH latexu zřejmě závisí více na chemismu plodnice houby, než na chemismu mykorhizního partnera, který je typický průvodce příslušné vegetační jednotky. U gutací byl menší soubor nasbíraných dat. Získání většího souboru dat, rozšíření zejména o druhy rostoucí ve vyšších polohách, by mohlo korelaci zesílit.

Schopnost plodnice absorbovat vodu by mohla mít vliv na pH exsudátů. Podíl vody v exsudátu by se mohl zvýšit např. při dlouhotrvajících deštích, a tím do jisté míry ovlivnit pH směrem k neutrálnímu. Na druhou stranu změřit schopnost plodnice absorbovat vodu by bylo velmi obtížné, a výsledky by nebyly nikterak vypovídající, protože by porovnávané plodnice musely vyrůstat na stejném místě (na stejné půdě, se stejnou expozicí vůči slunci, se stejným zastíněním a mikroklimatem), aby byl zajištěn naprosto shodný vodní režim.

Schopnost absorpce se stářím pletiv mění. Bylo by zajímavé *in vitro* kultivací modelového druhu houby měřit závislost pH exsudátu na médiu se zvyšujícím se množstvím vody. Pokud je gutace u hub zásobníkem vody a vedlejších metabolických produktů (Thornhill 2014), mělo by zvýšení příjmu vody vést k zředění těchto metabolitů a ke změně pH.

Je zajímavé, že oproti např. teplotním extremofilům, snášejícím vždy pouze jeden extrém (termofilní, nebo psychofilní), houby tolerující extrémní pH často přežijí na obou pólech škály (od pH nižší než 1 po pH přesahující hodnotu 11). Nejsou známy přesné mechanismy adaptací, bylo však zjištěno, že pH uvnitř buněk těchto hub se nijak neliší od hub rostoucích v naprosto běžných podmínkách. Houby tedy potřebují velké množství efektivních membránových pump, které odvádějí toxické ionty proti gradientu pH, aby i přes negativní vliv okolního prostředí udržely v buňce příznivé podmínky (Sklenář 2017).

Drtivá většina testovaných vzorků měla pH nižší než 7. Z grafů pH plodnic na jednotlivých lokalitách vyplývá, že geologické poměry a vlastnosti vodního zdroje nemají stejný vliv na různé druhy hub rostoucí v těsné blízkosti. Příkladem budiž lokalita Borová, kde jsme otestovali plodnice *Fomitopsis pinicola* a *Lactarius picinus*. Zatímco pH gutace u *Fomitopsis pinicola* bylo 2, tedy velmi kyselé, pH latexu *Lactarius picinus* bylo 7,5, tedy mírně zásadité.

Roli jistě hraje i substrát, ze kterého plodnice vyrůstají. Důležitá je schopnost půdy poskytnout vzlínáním vodu a spolu s ní i rozpuštěné minerály. Závisí tedy i na půdním druhu (písečné půdy mají zcela jiný vodní režim než půdy jílovité) a půdním typu. Složení exsudátů by mohla ovlivnit i kontaminace půdy těžkými kovy a jinými chemickými látkami, jako tomu bylo při pěstování *Paxillus involutus* na živném médiu obohaceném o Pb, kdy se organismus zbavoval přebytečných těžkých kovů prostřednictvím gutace (Formann 2016).

U ryzců, jejichž mléko na vzduchu žloutne, jsme zaznamenali jinou makrochemickou reakci před oxidací mléka a po ní. Zatímco před oxidací docházelo pouze k bílým sraženinám, po oxidaci došlo k sytě oranžové reakci s KOH u *Lactarius chrysorrheus*. Sytě oranžovou reakci jsme po oxidaci mléka zaznamenali i u *Lactarius scrobiculatus* a *Lactarius glaucescens*. Okamžitou

oranžovou reakci u těchto druhů s NaOH předkládá i Herink (1956), který však u *L. glaucescens* uvádí, že neměl příležitost pozorovat reakci s 15% NaOH na sklíčku, nýbrž pouze na velké kapce mléka na řezné ploše dužniny. Okamžitě došlo k oranžovění na okraji kapky, zatímco v kapce samé došlo ke vzniku sraženiny. Jedná se tedy patrně o změnu v chemické skladbě latexu po oxidaci (Ayer et Trifonov 1994, Bergendorff et Sterner 1988), která má vliv na reaktivitu s těmito zásadami.

Pouze u několika vzorků jsme otestovali i oxidázovou aktivitu. Negativní byla u testovaných gutací *Fomitopsis pinicola* a *Laetiporus sulphureus*, pozitivní u gutace *Phaeolus schweinitzii* a u latexu *Lactarius deterrimus*, *L. obscuratus*, *L. quietus* a *L. subdulcis*. Tento malý soubor ukazuje na odlišnosti, které by mohly být při větším počtu vzorků významné pro identifikaci taxonu jako je tomu v bakteriologii u oxidáza pozitivního rodu *Pseudomonas* (Bednář 2009).

U jedné plodnice ryzce plstnatého (*Lactarius vellereus*) se nám podařilo otestovat gutaci i latex zároveň. pH gutace i latexu bylo 7. Stejný byl i průběh makrochemických barevných reakcí. Je proto pravděpodobné, že tento druh ryzce má chemické složení latexu a gutace velmi podobné.

Všechny vybrané chemikálie reagovaly alespoň s některými exsudáty. Většina těchto reakcí byla druhově specifická, tedy by se po otestování dostatečného souboru vzorků a s ohledem na meteorologické podmínky dala použít jako determinační nástroj.

5 Závěr

V rámci bakalářské práce bylo testováno 71 plodnic z 41 druhů. Pilotní studie makrochemických reakcí latexu plodnic hub neprokázala vliv nadmořské výšky na pH exsudátů hub. Lze tedy říci, že více než podloží, ovlivňuje pH tekutiny v plodnici hostitelská či mykorhizní rostlina. Exsudáty plodnic si v rámci druhu udržují poměrně stálou hodnotu pH, a to i tehdy, jsou-li odebrané z různých lokalit. I to ukazuje další směr terénního aplikovaného výzkumu. K měření pH by však měly být použity modernější metody než lakmusové papírky.

U gutací by bylo k další analýze rozhodující otestovat více vzorků zejména z vyšších nadmořských výšek. Zajímavé by bylo porovnat pH gutací i podle hostitelské rostliny. V tomto případě korelace mezi pH gutačních kapek a nadmořskou výškou byla vyšší, na druhou stranu ne všechny druhy hub preferují pouze jeden druh hostitele.

U gutací je velmi málo zodpovězených otázek. Možná, že do budoucna by bylo přínosem se na tuto problematiku zaměřit. Mnohé by jistě osvětlila chemická analýza složení gutací u jednotlivých druhů. Opakování analýzy i několikrát v průběhu fruktifikační sezóny hub by mohlo zodpovědět otázku, zda se pH během roku mění a popřípadě proč k tomuto dochází.

Latex by měl být testován zvlášť, avšak v paralele s testováním dužniny, aby byly výsledky signifikantní. Výsledky se liší i s prostou reakcí při expozici atmosferického vzduchu. Zajímavé by bylo porovnat, jak se liší makrochemická reakce na použitá činidla před a po proběhlé oxidaci jak dužniny, tak latexu. V aplikované studii by bylo zajímavé otestovat i jiné rody hub produkující latex jako je rod *Mycena*. Mohla by přinést jistě zajímavé výsledky a zjednodušit tak terénní identifikaci.

Práce potvrzuje významnost makrochemického testování pro účely přesnější identifikace houbového taxonu a ukazuje další cesty přesnějších aplikovaných studií. Je však zřejmé, že validních výsledků lze dosáhnout jen testováním příslušného houbového exsudátu přímo v terénu.

6 Seznam použité literatury

AYER, William & TRIFONOV, Latchezar (1994): *Aromatic compounds from liquid cultures of Lactarius deliciosus*. – Journal of Natural Product, 57(6): 839-841.

BATTISTIN, Eliseo (2011): *RUSSULA CAMAROPHYLLA and new macrochemical reactions*. – Field mycology, 13: 27-30.

BEDNÁŘ, Marek, FRAŇKOVÁ, Věra, SCHINDLER, Jiří, SOUČEK, Andrej Vávra, Jiří: *Lékařská mikrobiologie*. Triton, 2009. ISBN 859-40-3150-528-0.

BERGENDORFF, Ola & STERNER, Olov (1988): *The sesquiterpenes of Lactarius deliciosus and Lactarius deterrimus*. – Phytochemistry, 27: 97-100.

BRITISH MYCOLOGICAL SOCIETY: *Chemical reagents*. [Online], [cit. 9. 7. 2018].
Dostupné z WWW:
<https://www.britmysoc.org.uk/mycology/microscopy/reagents>

BUYCK, Bart, HOFSTETTER, Valerie, EBERHARDT, Ursula, VERBEKEN, Annemieke, KAUFF, Frank (2008): *Walking the thin line between Russula and Lactarius: the dilemma of Russula subsect. Ochricompactae*. – Fungal Diversity 28: 15-40.

COLOTELO, Nicholas (1978): *Fungal exudates*. – Canadian Journal of Microbiology 24(10): 1173-1181.

DE BERNARDI, Maria, VIDARI, Giovanni, FINZI, Paola Vita, FRONZA, Giovanni (1992): *The chemistry of lactarius fuliginosus and lactarius picinus*. – Tetrahedron, 48 (35): 7331-7344.

ERB, Bruno & MATHEIS, Walter: *Pilzmikroskopie. Präparation und Untersuchung von Pilzen*. Stuttgart: Kosmos, 1983. ISBN 978-3440051276.

FORMANN, Steffi (2016): *Sequestration of heavy metals and radionuclides in ectomycorrhiza*. Disertační práce: Friedrich Schiller University, Jena. Fakulta biologie a farmacie.

GAREIS, Manfred & GAREIS, Eva Maria (2007): *Guttation droplets of Penicillium nordicum and Penicillium verrucosum contain high concentrations of the mycotoxins ochratoxin A and B*. – *Mycopathologia*, 163: 207–214.

GEOPORTAL. Geoportál [Online], [cit. 16. 4. 2018]. Dostupné z WWW: <https://geoportal.gov.cz/web/guest/map>.

GRYNDLER, Milan (2004): *Mykorhozní symbióza: O soužití hub s kořeny rostlin*. Praha: Academia, 2004. ISBN: 80-200-1240-0.

HAGARA, Ladislav: *Ottova encyklopedie hub*. Praha: Ottovo nakladatelství, 2015. ISBN 978-80-7451-407-4.

HERINK, Josef (1956): *Makrochemické reakce mléka ryzců — Lactarius (D. C. ex) S. F. Gray*. – In *Česká mykologie* 3: 148-159.

HOLEC, Jan & BERAN Miroslav [eds.] (2006): *Červený seznam hub (makromycetů) České republiky*. – *Příroda*, Praha, 24: 1-282.

HOLEC, Jan (2009): *Střední Čechy – domov vzácných a ohrožených hub*. – *Živa*, 4: 154-157.

HUTWIMMER, Stefan, WANG, Hui, STRASSER, Hermann, BURGSTALLER, Wolfgang (2010): *Formation of exudate droplets by Metarhizium anisopliae and the presence of destruxins*. – *Mycologia*, 102:1, 1-10.

JIN HEE, Kim, LEE, Choong Hwan (2009): *Atromentin-Induced Apoptosis in Human Leukemia U937 Cells*. – *Journal of microbiology and biotechnology*, 19: 946–950.

McPHEE W.J. , COLOTELO, Nicholas (1977): *Fungal exudates. I. Characteristics of hyphal exudates in Fusarium culmorum*. – *Canadian Journal of Botany*, 55: 358-365.

MOORE, David: *Fungal Morphogenesis*. New York: Cambridge University Press. ISBN: 0 521 55295 8.

MYKOLOGIE.NET: [Online], [cit. 9. 7. 2018]. Dostupné z WWW: <http://www.mykologie.net/>

- OHYA, Norimasa, TANAKA, Yasuyuki, OGURA, Kyozo, KOYAMA, Tanetoshi (1997): *Isopentenyl diphosphate isomerase activity in Lactarius mushrooms*. – *Phytochemistry* 46 (6): 1115-1118.
- PEREIRA, Eric, OLIVEIRA, Ivo, BAPTISTA, Paula (2012): *Guttation droplets of the edible mushroom Suillus bovinus as a new source of natural antioxidants*. – *Scientia Horticulturae*, 148: 89-92.
- PARMASTO, Erast & VOITK, Andrus (2010): *Why do mushrooms weep?* – *FUNGI*, 3(4): 15-17.
- PATOČKA, Jiří (2011). *Atromentin, biologicky aktivní chinon makromycet*. [Online], [cit. 13. 4. 2018] Dostupné z WWW: <http://toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=395> .
- PATOČKA, Jiří & BURLE, Václav (2013): *Bělochoroš slzící*. – *Vesmír* 92: 191.
- SKLENÁŘ, František (2017): *Život na hraně: extremofilní houby*. – *Živa* 5: 208-213.
- SOCHA, Radomír, HÁLEK, Václav, BAIER, Jiří, HÁK, Jiří: *Holubinky (Russula)*. Praha: Academia, 2011. ISBN 978-80-200-1993-6.
- SOCHA, Radomír, HÁK, Jiří, KOVAČ, Jiří, VÍT, Aleš: *Ryzce: v lese, v kuchyni a s léčivými účinky*. Praha: Eminent, 2015. ISBN 978-80-7281-494-7.
- SPRECHER, Ewald (1959): *Über die Guttation bei Pilzen*. – *Planta* 53 (6): 565-574.
- TANAKA, Yasuyuki, KAWAHARA, Seiichi, ENG, Aik-Hwee, TAKEI, Atsushi, OHYA Norimasa (1994): *Structure of cis-polyisoprene from Lactarius Mushrooms*. – *Acta Biochimica Polonica* 41: 303-309.
- THORNHILL, Jan (2014): *Weird and wonderfull wild mushrooms. Fungal guttation*. [Online], [cit. 9. 7. 2018] Dostupné z WWW: <https://weirdandwonderfulwildmushrooms.blogspot.com/2014/08/read-it-and-weep-fungal-guttation.html>.
- VERBEKEN, Annemieke & NUYTINCK, Jorinde (2013): *Not every milkcap is Lactarius*. – *Scripta Botanica Belgica* 51: 162-168.

VRŠKA, Tomáš, HORT, Libor, ODEHNALOVÁ, Petra, HORAL, David, ADAM, Dušan (2001): *The Boubín virgin forest after 24 years (1972-1996) – Development of tree layer.* – Journal of forest Science 47(10): 439-459.

WIJNBERG, Joannes et al. (1999): *Novel monochlorinated metabolites with a 1-benzoxepin skeleton from Mycena galopus.* – Tetrahedron Letters 40(31): 5767-5770

ZAPLETAL, Jan et al. (2013): *Plán péče o přírodní rezervaci Peklo.* [Online], [cit. 9. 7. 2018] Dostupné z WWW: <http://www.kr-kralovehradecky.cz/assets/krajsky-urad/ziv-prostredi-zemedelstvi/aktuality/ochrana-prirody/Navrh-planu-pece-o-PR-Peklo.pdf>.

7 Přílohy

Příloha A: Seznam obrázků

Příloha B: Seznam tabulek

Příloha C: Seznam grafů

Příloha D: Obrazová část Vybrané druhy gutujících a mléčících hub

PŘÍLOHA A: SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: gutace <i>Fomitopsis pinicola</i>	15
Obr. 2: gutace <i>Hydnellum peckii</i>	15
Obr. 3: Latex ryzce kafrového (<i>Lactarius camphoratus</i>)	18
Obr. 4: Reakce exsudátu s použitými chemikáliemi	26

PŘÍLOHA B: SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Gutace chorošovité, troudnatcovité, čeledě Hagara (2015).....	13
Tab. 2: Gutace kožovkovité, pevníkovité Hagara (2015)	14
Tab. 3: Gutace hřibovité, lošákovité, čeledě Hagara (2015)	14
Tab. 4: Latex produkující druhy	17
Tab. 5: Literatura k determinaci	21
Tab. 6: Gutující druhy.....	25
Tab. 7: Latex produkující druhy	25
Tab. 8: Testované gutující druhy	27
Tab. 9: Makrochemické reakce gutací	28
Tab. 10a: Testované mléčící druhy (část 1.)	29
Tab. 10b: Testované mléčící druhy, (část 2.).....	30
Tab. 11a: Makrochemické reakce latexu (část 1.)	31
Tab. 11b: Makrochemické reakce latexu (část 2.)	32
Tab. 12: Oxidázová aktivita exsudátů	32

PŘÍLOHA C: SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: pH exsudátů Borová	33
Graf 2: pH exsudátů Boubínský prales	33
Graf 3: pH exsudátů Náchod, Běloves	34
Graf 4: pH exsudátů Nová Ves	34
Graf 5: pH exsudátů Jeřičky, polesí V Dubech	35
Graf 6: pH exsudátů PR Peklo	35
Graf 7: pH exsudátů Radostov	36
Graf 8: pH exsudátů Týniště, Houkvice	36
Graf 9: pH exsudátů Nový Hradec	37
Graf 10: Závislost pH latexu na nadmořské výšce	38
Graf 11: Závislost pH gutace na nadmořské výšce	39

PŘÍLOHA D: OBRAZOVÁ ČÁST

Obrazová část s názvem Vybrané gutující a mléčící druhy hub, která je součástí bakalářské práce, je svázána zvlášť.