

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra zahradnictví



Pěstování hlívy máčkové
(*Pleurotus eryngii*) na rostlinách a lignocelulózových
odpadech

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Marcela Barth, DiS

Obor studia: Ekologické zemědělství

Vedoucí práce: Ing. Ivan Jablonský, CSc.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Pěstování hlívy máčkové (*Pleurotus eryngii*) na rostlinách a lignocelulózových odpadech" jsem vypracoval(a) samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 12.4.2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Ivanu Jablonskému, CSc. za odborné vedení diplomové práce, předané zkušenosti a věnovaný čas.

Pěstování hlívy máčkové (*Pleurotus eryngii*) na rostlinách a lignocelulózových odpadech

Souhrn

Cílem této práce bylo ověřit schopnost hlívy máčkové (*Pleurotus eryngii*) kolonizovat myceliem různé druhy lignocelulóznych substrátů a pletivo invazivní rostliny bolševníku velkolepého (*Heracleum mantegazzianum*).

Byly formulovány následující hypotézy: 1. Substráty předběžně podrobené obvyklému tepelnému ošetření usnadňují růst mycelia hlívy máčkové, zatímco růst vláknitých kontaminujících hub je potlačen. 2. Mycelium hlívy máčkové je schopno kolonizovat piliny listnatého dřeva ale i dřeva jehličnatého po příslušné úpravě. 3. Přídavek nutrientů do pilinového substrátu má za následek rychlejší kolonizaci substrátu a zvýšený výnos. 4. Podhoubí hlívy máčkové v přirozeném prostředí obvykle osidluje pletiva rostlin čeledi miříkovitých, existuje tedy možnost, že by mohl kolonizovat i pletivo bolševníku velkolepého.

V pokusech na lignocelulóznych substrátech byly porovnány následující varianty: bukové piliny, smrkové piliny, fermentované smrkové piliny s 5 % fugátem, fermentované smrkové piliny bez fugátu, slaměné pelety a všechny tyto varianty obohacené o 20 % pšeničných otrub. Dále se porovnávalo teplotní ošetření substrátu sterilizací při teplotě 90 °C po dobu 24 a 48 hodin a rozdíl ve schopnosti kolonizace substrátu dvěma asijskými kmeny *P.e. Eryngii* a *P.e. Bailingu* a evropským kmenem Kurdějov.

Výsledkem pokusů bylo, že schopnost prorůstání mycelia substrátem je především ovlivněno složením substrátu více než kmenem. Nejvhodnějšími substráty pro pěstování hlívy máčkové jsou bukové piliny obohacené o 20 % otrub a smrkové piliny fermentované při 30 °C po dobu 6 týdnů s přídavkem 5 % fugátu. Piliny jehličnanů jsou pro pěstování méně vhodné než piliny listnatých stromů, avšak fermentací pilin z jehličnatého dřeva a jejich obohacením o otruby lze připravit substrát, který bude kolonizován stejně rychle jako piliny listnatých stromů. Teplotní ošetření po dobu 24 hod při teplotě 90 °C je dostatečné a není třeba dobu prodlužovat.

Předmětem pokusů na bolševníku velkolepém byla inokulace kořene rostliny párátky a tyčkami prorostlými podhoubím a mulčování sadbou hlívy máčkové. Provedenými pokusy se však zatím nepodařilo potvrdit hypotézu, že mycelium hlívy máčkové může osidlovat pletivo bolševníku, ačkoliv některé pokusné rostliny byly částečně nekrotizovány.

Klíčová slova: hlíva máčková, substrát, bolševník velkolepý, mycelium.

Production of King Oyster Mushrooms (*Pleurotus eryngii*) on Plants and Lignocellulosic Waste

Summary

The aim of this study was to verify the ability of the mycelium of King oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) to colonize tissue of invasive plant giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) and different types of lignocellulosic substrates.

Following hypotheses have been formulated:

1. Substrates preliminarily imposed to heat treatment enable the growth of mycelium of the King oyster mushroom, while the growth of filamentous contaminating fungi is suppressed.
2. The spawn of *Pleurotus eryngii* is able to colonize the deciduous sawdust but also coniferous sawdust after appropriate treatment.
3. Addition of nutrients into sawdust substrate increases the rate of substrate colonization and increases the yield.
4. The spawn of King oyster mushroom, in its natural environment, usually inhabits the tissue of the family *Apiaceae*, so there is a possibility that it may also colonize giant hogweed tissue.

Following lignocellulosic substrates were compared in experiments: beech sawdust, spruce sawdust, fermented spruce sawdust, fermented spruce sawdust with 5% supernatant liquid, straw pellets and all these variants enriched with 20% of wheat bran. Furthermore, the thermal treatment has been tested. Two variants have been compared – 90 °C sterilization for 24 hours and 90 °C sterilization for 48 hours. Furthermore, the comparison of colonization ability of the two Asiatic strains *P.e. Eryngii* and *P.e. Bailingu* and European strain Kurdějov has been done.

The conclusion is that the colonization rate is first of all influenced by the substrate type and not so much by the strain. The best evaluated substrates from the tested variants were beech sawdust enriched with 20% wheat bran and spruce sawdust fermented for 6 weeks enriched with 5% supernatant liquid. Coniferous sawdust is due to its content of aromatic oils less suitable for growing of mushrooms than sawdust of deciduous trees. Nevertheless, the fermented coniferous sawdust with supernatant liquid and enriched with bran can help to prepare substrate that would be colonized by mycelium as quickly as sawdust of the deciduous

trees. Regarding the substrate treatment, 24 hours sterilization at 90 °C is sufficient and it is not necessary to extend the time.

The subject of the experiment with the giant hogweed root inoculation was done with wooden toothpicks and wooden sticks covered with the mycelium. Some plants were additionally mulched with the wheat grain covered with the mycelium. Although some experiments were partially successful and some plants were necrotized, the results were not sufficient to confirm the hypothesis that the mycelium of the King oyster mushroom can colonize the tissue of the giant hogweed.

Key words: King oyster mushroom, substrate, giant hogweed, mycelium.

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce a hypotéza	2
3	Přehled literatury	3
3.1	Hlíva máčková (Pleurotus eryngii)	3
3.1.1	Název houby Pleurotus eryngii (DC.) Quél	3
3.1.2	Původ a výskyt	3
3.1.3	Taxonomické zařazení	5
3.1.4	Botanická charakteristika	6
3.1.5	Produkce hlívy máčkové	6
3.1.6	Pěstování hlívy máčkové	7
3.1.7	Nežádoucí mikroorganismy v substrátu	9
3.1.8	Příprava substrátu pro pěstování a jeho sterilizace/pasterizace	10
3.1.9	Sadba a očkování	11
3.1.10	Klimatické podmínky pro růst hlívy královské	11
3.1.11	Pěstování a sklizeň	12
3.1.12	Vyplozený substrát a jeho využití	12
3.1.13	Pěstování jedlých hub v ekologickém zemědělství	13
3.2	Bolševník velkolepý	14
4	Materiál a metody	16
4.1	Pěstování hlívy máčkové na lignocelulózních odpadech	16
4.1.1	Materiál	16
4.1.2	Metody	17
4.1.3	Pokusy	20
4.1.3.1	Pokus 1	20
4.1.3.2	Pokus 2	21
4.1.3.3	Pokus 3	21
4.1.3.4	Pokus 4	22
4.1.3.5	Pokus 5	24
4.2	Pěstování na rostlinách – pokusy s kultivací hlívy máčkové na bolševníku velkolepém (Heracleum mantegazzianum)	25
4.2.1	Materiál a metody	25
5	Výsledky	27
5.1	Pokus 1	27

5.2	Pokus 2	28
5.3	Pokus 3	29
5.4	Pokus 4	32
5.5	Pokus 5	34
5.6	Pěstování na rostlinách – pokusy s kultivací hlívy máčkové na bolševníku velkolepém (<i>Heracleum mantegazzianum</i>).....	35
5.7	Inokulace klíčících semen na agaru a peletách v Petriho miskách	36
6	Diskuze	37
7	Závěr	41
8	Seznam literatury.....	43
9	Přílohy.....	46

1 Úvod

Pěstování jedlých hub je rychle rostoucím odvětvím zemědělství. Poptávka po produkčně vypěstovaných houbách roste a pro pěstitele a zemědělce nabízí pěstování hub možnost ekologického zpracování velkého množství zemědělského odpadu a s relativně nízkými náklady možnost rozšíření sortimentu o jedlé houby. Ačkoliv používání chemických přísad může pěstování hub podpořit, k pěstování a dosažení optimálních výnosů není nezbytně nutné, a proto je tato činnost vhodná i pro ekologické zemědělce. Pro ekologické farmy je, více než pro farmy konvenční, důležitý koloběh živin na vlastní farmě. Vzhledem k tomu, že pěstování umožňuje využití odpadů rostlinné produkce, využití odpadu z bioplynových stanic, vyplozený substrát lze snadno zkompostovat a opětovně využít jako hnojivo pro pěstování nebo přídavek do krmiva pro hospodářská zvířata, je tato činnost pro ekofarmy přínosná.

Tato práce pojednává o možnostech pěstování dřevokazné houby hlívy máčkové (*Pleurotus eryngii*) na rostlinách a lignocelulózových substrátech, způsobech tepelného ošetření substrátu před konkurenčními mikroorganismy, složení substrátu – využití dřevěných pilin z listnatých i jehličnatých stromů, obohacení substrátu o přídavky a nastavení optimálních podmínek pěstování (teplota, vlhkost vzduchu a substrátu, koncentrace CO₂) za účelem dosažení co nejvyšších výnosů.

Snahou této práce je také prozkoumat možnosti využití mycelia hlívy máčkové v boji proti invazivní rostlině bolševníku velkolepému (*Heracleum mantegazzianum*), který patří do čeledi miříkovité, stejně jako rostlina máčka ladní, jejíž pletivo houba v přirozeném prostředí osidluje. Bolševník velkolepý je rostlina, která se na území České republiky chová jako invazivní, rychle se šíří a v současné době není znám žádný ekologický způsob její likvidace. Možnost využití mycelia hlívy máčkové k potlačení nebo likvidaci porostů bolševníku by tudíž bylo velkým přínosem.

Práce obsahuje literární rešerši týkající se produkčního pěstování hlívy máčkové ve světě a vlastní výzkum.

2 Cíl práce a hypotéza

Ověřit různé postupy teplotního ošetření substrátu, složení substrátu, přídavky a možnost uplatnění inokula houby jako ochrany proti invazivní rostlině bolševník obecný (*Heracleum mantegazzianum*).

Hypotézy

1. Substráty předběžně kolonizované vybranými druhy mikroorganismů a následně podrobené obvyklému tepelnému ošetření usnadňují růst mycelia hlívy máčkové, zatímco růst vláknitých kontaminujících hub je potlačen.
2. Mycelium hlívy máčkové je schopno kolonizovat piliny listnatého dřeva ale i dřeva jehličnatého po příslušné úpravě.
3. Přídavek nutrientů do pilinového substrátu má za následek rychlejší kolonizaci substrátu a zvýšený výnos.
4. Podhoubí hlívy máčkové obvykle osidlují pletiva rostlin čeledi miříkovitých, přičemž různé kmeny preferují v přirozeném prostředí různé druhy rostlin miříkovitých. Hlíva máčková se většinou nachází na hostitelské rostlině máčce ladní *Eryngium campestre*, které osidluje, jiné kmeny hlívy máčkové osidlují kořeny nebo rostlinné zbytky jiných druhů patřících do čeledi *Apiaceae*, př. *Eryngii campestre*, *Cachrys ferulacea* nebo *Ferula communis*. Existuje tedy možnost, že by mohla kolonizovat také pletivo rostlin bolševníku.

3 Přehled literatury

3.1 Hlíva máčková (*Pleurotus eryngii*)

3.1.1 Název houby *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél

Hlíva máčková, známá také jako hlíva královská, latinsky *Pleurotus eryngii* je stopkovýtřusá houba z rodu *Pleurotus*. V angličtině je známá pod názvem king oyster mushroom, v italštině cordoncello, v němčině Kräuterseitling a v holandštině konings oesterzwam.

3.1.2 Původ a výskyt

Hlíva máčková roste ve stepích Střední Asie, severní Africe, jižní Evropě a vyskytuje se i ve výšce 2000 m. n.m. v Himaláji a od ostatních druhů hlív se liší tím, že neroste v přírodě na dřevě stromů, ale na kořenech (Jablonský a Šašek, 2006) a zbytcích stonků rostlin z čeledi miříkovitých (Zervakis et al., 2014). V Itálii je široce rozšířena po celé rozloze od severu k jihu, včetně středoziemních ostrovů v oblastech s různou nadmořskou výškou, teplotou a vlhkostí vzduchu (De Gioia et al, 2004). Poddruh *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* většinou osidluje pletiva hostitelské rostliny máčky ladní *Eryngium campestre* (De Gioia, 2004) a odtud také pochází český název houby.

Bylo provedeno několik studií o *Pleurotus eryngii*, ve kterých vědci zkoumali houby nalezené na jejich přírodních stanovištích, na hostitelských rostlinách, převážně v Itálii. Na základě zjištěných odlišností a vazbu jednotlivých poddruhů na určitou rostlinu z čeledi miříkovité (*Apiaceae*) byl postupně druh rozdělen na poddruhy. V roce 1982 rozdělil Hilber na základě morfologických a fenotypových znaků druh *Pleurotus eryngii* na tři poddruhy. Již tehdy bylo známé, že různé kmeny hlívy máčkové mohou růst na kořenech nebo rostlinných zbytcích různých druhů čeledi miříkovité *Apiaceae* a existuje vztah jednotlivých kmenů k dané rostlině:

1. *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* rostoucí máčce ladní *Eryngium campestre* v oblasti jižní, východní a západní Evropy,

2. *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* rostoucí na ločidle obecném *Ferula communis* v jižní Evropě a severní Africe,
3. *Pleurotus eryngii* var. *nebrodensis* rostoucí na hladýši široolistém *Laserpitium latifolium* a kadidlovce *Cachrys ferulacea* v jižní Evropě (Itálie, Sicílie, Francie, Korsika, Atlas).

Později přibyla ještě *Pleurotus eryngii* var. *elaeoselini*, která roste na Sicílii na kořenech šutranky *Elaeoselinum asclepium* subsp. *Asclepium* (Venturella et al., 2000).

Toto rozdělení na základě nových poznatků upravili a rozšířili o nové druhy Zervakis et al. (2014). *Pleurotus eryngii* rozdělil do tří skupin:

1. *Pleurotus eryngii sensu stricto* (*P. eryngii* var. *eryngii*, *P. eryngii* var. *elaeoselini*, *P. eryngii* var. *ferulae*, *P. eryngii* var. *tingitanus*, *P. eryngii* var. *thapsiae*, *P. eryngii* var. *tuoliensis*)
2. *Pleurotus nebrodensis*, *Pleurotus nebrodensis* subsp. *Fossulatus*
3. *Pleurotus ferulaginis*.

Dokázal také, že vztah jednotlivých poddruhů k určitým druhům rostlin z čeledi *Apiaceae* je geneticky podmíněn. Na základě studia morfologických a ekologických kritérií a genetické analýzy sekvence rRNA ITS1-5.8 S-ITS2 a IGS1 sestavil seznam jednotlivých poddruhů *Pleurotus eryngii* a přiřadil k nim hostitelské rostliny, na kterých v přírodě parazitují, včetně geografického zařazení:

1. *P.eryngii* var. *eryngii* roste na máčce středozemní *Eryngium maritimum* (Řecko), máčce ladní *Eryngium campestre* (Itálie), *Eryngium* sp. (Ukrajina, Francie, Čína) a smldníku kmínolistém *Peucedanum cervaria* (Itálie).
2. *P. eryngii* var. *elaeoselini* roste na hladýších *Laserpitium siler* (Itálie), *Laserpitium latifolium* (Itálie, Rumunsko), šutrance *Elaeoselinum asclepium* (Itálie, Sicílie), *Margotia gummifera* (Španělsko) a čuřidle vlnatém *Thapsia villosa* (Španělsko).
3. *P.eryngii* var. *ferulae* roste na rostlině *Ferula communis* (Řecko, Francie).
4. *P.eryngii* var. *tingitanus* roste na rostlině *Ferula tingitana* (Izrael).
5. *P.eryngii* var. *thapsiae* roste na smrtící mrkvi *Thapsia garganica* (Itálie, Sicílie) a příbuzná *P.eryngii* var. *tuoliensis* roste také na ločidle *Ferula* sp., ale pouze v Asii (Čína).

6. *Pleurotus ferulaginis* roste na ločidlovce *Ferulago campestris* (Itálie).
7. *Pleurotus nebrodensis* – hlíva sicilská roste na prangosu *Prangos ferulaca* (Řecko, Irán).
8. *Pleurotus nebrodensis* subsp. *fossulatus* roste také na *Prangos ferulacea*, ale v Arménii (Zervakis, 2014).
9. Poddruh, který nebyl ve studii zařazen je *P.eryngii* var.*hadamardii*, která roste na kadidlovce *Cachrys ferulacea* a hladýši širolistém *Laserpium latifolium* (Urbanelli, 2007).

3.1.3 Taxonomické zařazení

Říše:	Houby (<i>Fungi</i>)
Oddělení:	Stopkovýtrusné (<i>Basidiomycota</i>)
Třída:	Stopkovýtrusé (<i>Basidiomycetes</i>)
Podtřída:	Houby rouškaté (<i>Agaricomycetidae</i>)
Řád:	Lupenotvaré (<i>Agaricales</i>)
Čeleď:	Hlívovité (<i>Pleurotaceae</i>)
Rod:	Hlíva (<i>Pleurotus</i>)
Druh:	Hlíva máčková (<i>Pleurotus eryngii</i>)

Poddruhy:

1. *Pleurotus eryngii sensu stricto*
 - P. eryngii* var. *eryngii*
 - P. eryngii* var. *elaeoselini*
 - P. eryngii* var. *ferulae*
 - P. eryngii* var. *tingitanus*
 - P. eryngii* var. *thapsiae*

P. eryngii var. *tuoliensis*

2. *Pleurotus nebrodensis*, *Pleurotus nebrodensis* subsp. *Fossulatus*

3. *Pleurotus ferulaginis*

3.1.4 Botanická charakteristika

Klobouk plodnice dosahuje průměru 3-12 cm a třeň je dlouhý 3-10 cm. Lamely jsou řídké umístěné, tenké, šedé barvy. Plodnice rostou jednotlivě nebo v malých trsech. Vypěstované plodnice dosahují větších rozměrů než plodnice nalezené v přírodě (Jablonský a Šašek, 2006).

3.1.5 Produkce hlívy máčkové

Produkce hub rodu *Pleurotus* vzhledem k rostoucí popularitě stále roste a představuje nejvíce pěstovanou skupinu jedlých hub na světě. Druh *Pleurotus eryngii* je nejpěstovanější houbou v Jižní Koreji, Číně a Japonsku (Ryu et al., 2015) s roční produkcí 300 000 t/rok (Im et al., 2013). Hlíva máčková je populární vzhledem ke své konzistenci, lahodné chuti a dlouhé trvanlivosti (Royse, 1999; Moonmoon 2010) a z výživového hlediska je považována za významnou především pro vysoký obsah proteinů, minerálů, vitamínů, antioxidantů, lovastatinů a vlákniny (Cohen et al. 2002).

Komerční pěstování hlívy máčkové začalo v Itálii v sedmdesátých letech 20. století, odkud se rozšířilo do jiných zemí. V Japonsku začali s pěstováním v roce 1995 a v roce 2003 vyprodukovali 29 000 t (Yamanaka, 2005). Ve větší míře se pěstuje také v Číně a USA (Royse et al., 2005).

V Evropě poptávka po hlívě máčkové roste a s ní se zvyšuje i její produkce. Jen v Německu se produkce této houby zvýšila z roku 2015 na 2016 o 30 % (z 1000 t na 1300 t) a současná produkce jedlých hub v Německu je 71 000 t ročně. Spotřeba hlívy královské v Evropě je 3800 t a Evropa je z 68 % soběstačná (z celkové produkce 2600 t vyprodukováno 1300 t v Německu, 500 t v Itálii, 150 t v Nizozemsku, 100 t ve Španělsku a 50 t ve Francii) a zbývající množství 1200 t se dováží z Jižní Koreji (1000 t) a Číny (200 t). Zatímco v roce 2008 se z Asie (Jižní Koreji) dováželo pouze 260 t, v roce 2016 to bylo 1200 t (z Jižní Koreji a Číny).

S vyšší produkcí souvisí i vyšší spotřeba substrátu, který se z části vyrábí v Evropě a zbytek se dováží z Asie (Číny a Jižní Koreji). Zatímco 90 % korejského substrátu je dováženo letecky a pouze 10 % lodní přepravou, z Číny se přepravuje 100 % substrátu lodí, přičemž přeprava trvá pět týdnů. V Evropě jsou největšími producenty slaměného substrátu: Bruno Henry, Euro Substrat (Francie), Funghi Grotte di Costozza (Itálie) a Koopmans (Nizozemsko) a největšími producenty substrátu na dřevní bázi jsou CNC Exotic Mushroom (Nizozemsko) v biokvalitě, BioMycoTec, Lehr Bio Speisepilzkulturen, Lan Biofunghi, Pilzhof Lippe, Substratproduktion Kynast – Löcke (Německo), Fine Funghi – P. Romanens – v biokvalitě, Kernser Edelpilze – Sepp Häcki (Švýcarsko) a Fungho Netherlands, (Gross, 2016).

3.1.6 Pěstování hlívy máčkové

Pěstování hlívy máčkové je v porovnání s ostatními duhy hlív náročnější, neboť její mycelium má podstatně pomalejší růst, je citlivější na patogeny, ekologické a jiné faktory jako světlo, teplota, vlhkost, CO₂, pěstební metody a techniky atd. (Kirbag & Akzuy 2008). Zharare et al. (2010) testovali rychlost prorůstání mycelia u osmi kmenů z rodu *Pleurotus*, z nichž hlíva máčková měla nejpomalejší růst, průměrně 0,21 cm/den a potvrdili, že růst mycelia je podmíněn geneticky. Pomalý růst mycelia může způsobit větší náchylnost ke kontaminaci substrátu mikroorganismy (houbové a bakteriální infekce) a ve výsledku snížení výnosu. Dalším úskalím při pěstování hlívy máčkové je, že sklizeň obvykle probíhá pouze v jedné vlně. U jiných druhů jedlých hub, př. hlíva ústříčná, probíhá ve dvou nebo více vlnách, než je vyplozený substrát použitý k jiným účelům (Royse et al., 2008).

Výhodou hub z rodu *Pleurotus* je, že mohou růst na lignocelulózovém substrátu bez potřeby kompostování nebo zakrývání zeminou (Wood a Smith, 1987). Zakrývání zeminou se však doporučuje z důvodu lepšího využití substrátu a zvýšení výnosů (Estrada a Royse, 2009). Krycí zemina poskytuje zásobu vláhy pro růst houby a ochranu proti chorobám, ale prodlužuje období tvorby plodnic (Akyuz a Yldiz, 2008). Za účelem vyšších výnosů a rychlejšího nasazení plodnic se také osvědčilo narušit a lehce prokypřit povrch substrátu po otevření sáčku a jeho umístění do pěstírny (Estrada a Royse, 2009, van Avezaath, 2015).

Hlíva máčková může růst na různých rostlinných zbytcích a k přípravě substrátu pro její pěstování se dají využít odpady rostlinné produkce jako pšeničná sláma, bavlníková sláma, čočková sláma, sójové slupky, slupky podzemnice olejné, bambusová drť, v závislosti na

dostupnosti rostlinných materiálů v různých pěstebních oblastech světa (Cohen et al., 2012, Kirbag & Akzuy 2008). Výnos, rychlost růstu mycelia a období tvorby plodnic je ovlivněno zdrojem dusíku a jeho množstvím (Yildiz and Karakaplan, 2003; Kirbag a Akyuz, 2008), proto se za účelem zvýšení výnosu tyto substráty obohacují. Na základě pokusů lze doporučit substrát z pšeničné slámy se sojovými slupkami (1:1) obohacené 5 % rýžových otrub (Akyuz a Yildiz, 2008) nebo substrát z pšeničné slámy a bavlníkové slámy (1:1) obohacené o 20 % rýžových otrub (Kirbag a Akyuz, 2008). Osvědčeným substrátem jsou také piliny z listnatého dřeva obohaceného o různé přísady jako rýžové nebo pšeničné otruby, kukuřičné moučky, bavlníkových tobolek (Jablonský a Šašek, 2006).

Moonmoon (2010) svými pokusy zjistil, že plodnice vypěstované na rýžové slámě byly větší, u substrátu z dřevěných pilin obohacených o pšeničné nebo rýžové otruby však bylo dosaženo vyšších výnosů a větší biologické efektivity.

Dále Moonmoon ve své studii tvrdí, že různé kmeny *Pleurotus eryngii* reagují rozdílně na složení substrátu. Rozdíly jsou v rychlosti prorůstání mycelia, výnosu, biologické efektivity, kvalitě, počtu a velikosti plodnic (Moonmoon et al 2010).

Výnos může být tedy ovlivněn biologickou strukturou substrátu a genotypem houby (Kirbag a Akyuz, 2008). Například přidáním sójových bobů do substrátu dochází ke zvýšení výnosů, rozdílné kmeny však reagují odlišně a každý kmen může vyžadovat jiné procento přísady k dosažení požadovaného výnosu. Počet plodnic, velikost plodnic jsou znaky výrazně ovlivněné kmenem (Gioia et al., 2004; Estrada a Royse, 2006), zatímco výnos a biologická efektivita jsou zásadně ovlivněny složením substrátu a jeho přísady (Estrada a Royse, 2006).

Snahou vědců a pěstitelů je najít ekonomicky výhodnou pěstební metodu, která by umožnila zvýšit výnos a biologickou efektivitu a nebyla tím ovlivněna kvalita hub. Biologická efektivita získaná z jedné vlny sklizně hlívy máčkové pěstované v lahvích nebo pytlích je 50–80 % a je snaha tuto hodnotu zvýšit. Jednou z možností, jak dosáhnout lepší sklizně ve více vlnách může být zakrytí substrátu krycí zeminou, která minimalizuje ztrátu vláhy substrátu a obohacením substrátu o přísadu se zpožděným uvolňováním živin v různých fázích vývoje (Estrada a Royse, 2008). Pokusem, kterým provedli Estrada et al. (2009) se při zakrytí substrátu krycí zeminou zvýšil výnos o 141 %, při kombinaci krycí zeminy a přísady se zpožděným uvolňováním živin došlo ke zvýšení výnosu o 179 %. Takto vypěstované houby měly, v porovnání s nezakrytými, tmavší barvu a měly nižší obsah sušiny (Estrada et al., 2009).

Bylo dokázáno, že některé mikroprvky mohou stimulovat růst hub z rodu *Pleurotus*. Přídavkem manganu do substrátu se urychlil růst mycelia a zvýšil výnos a biologická efektivita. To je způsobeno tím, že mangan zvyšuje schopnost houby rozkládat lignin. Doporučené množství je 50 µg/g ve formě MnSO₄. Bylo zjištěno, že přídavkem manganu je ovlivněno minerální složení plodnic – P, Fe, B, Mg, Mn, Cu, Zn (Estrada a Royse, 2006).

Pleurotus eryngii má, v porovnání s ostatními jedlými průmyslově pěstovanými houbami, díky své konzistenci a nižšímu obsahu vody dlouhou trvanlivost. Vzhledem k tomu, že velká část hub vyrobených ve východní Asii je určena na vývoz do Evropy a Severní Ameriky a lodní přeprava trvá několik týdnů, je snaha tuto trvanlivost ještě zvýšit. Velký vliv na zvýšenou trvanlivost plodnic hlívy máčkové má obsah vody. Proto museli pěstitelé upravit obsah vody v substrátu. Z analýzy Ryu et al. (2015) vyplývá, že pro zvýšení trvanlivosti je důležitý i obsah hrubé bílkoviny (optimální množství 4,5%) a extrahovaného dusíku (optimální množství 15%). Dodržením těchto hodnot v substrátu bylo dosaženo zvýšení trvanlivosti na 35-50 dní a zároveň lepší kvality a vyššího výnosu. Složení substrátu bylo následující: 18,46 % dřevěných pilin, 18,46 % kukuřičných větven, 15,38 % pšeničných otrub, 9,23 % sójových slupek, 9,23 % řepných řízků, 9,23 % sójových pokrutin, 7,69 % kukuřičný lepek, 4,62 % sladového květu, 3,08 % kukuřičné moučky, 3,08 % bavlněných slupek a 1,54 % rýžových slupek (Ryu et al., 2015).

Ro et al. (2007) použili RAPD analýzu k porovnání DNA u 22 kmenů *Pleurotus eryngii* a na základě získaných výsledků rozdělili kmeny do pěti skupin s určitou genetickou příbuzností. Toto zjištění potvrdili v následné studii, kdy testovali vývoj plodnic, morfologické a fyziologické znaky (velikost a tvar plodnic, optimální teplota pro růst, rychlost růstu) u jednotlivých kmenů. Došli k závěru, že vypěstované plodnice vykazují společné fenotypové znaky podle zařazení do skupin na základě RAPD analýzy. Potvrdili tím, že tato metoda může být použita při určování vhodných kmenů pro průmyslové pěstování hub.

3.1.7 Nežádoucí mikroorganismy v substrátu

Čerstvá sláma obsahuje škodlivou mikroflóru (*Fusarium spp*, *Geotrichum candidum*, *Pseudomonas tolaasii*, *Trichoderma spp*), která kontaminuje substrát. Proto je třeba slámu, která se používá k pěstování hub ošetřit pasterizací. Nedoporučuje se slámu fermentovat, a když tak, jen krátce, jelikož fermentací dochází ke snížení výnosu a není zaručena 100 % likvidace

konkurenčních mikroorganismů. Při fermentaci po dobu šesti dnů došlo ke snížení výnosu o 25 % (ztráta vody a sušiny) a pozdějšímu nasazení plodnic. Vyššího výnosu lze dosáhnout krátkou fermentací a následnou pasterizací (Amsing a Horst, 2008).

Bakterie *Pseudomonas spp* hynou při teplotách 50–60 °C a mají vyšší aktivitu ve slámě s vlhkostí nad 70 %. Optimální podmínky pro vývoj *Pseudomonas spp* jsou pH je 7 - 8,5, teplota 25-30 °C a vlhkost vzduchu nad 95 %. Jako prevence se tedy doporučuje ošetřit substrát pasterizací při teplotě vyšší 60 °C, vlhkost slámy pod 70 %, pH nižší než 7, teplota při prorůstání mycelia pod 25 °C, vlhkost vzduchu nižší než 90 % a přísnou hygienu (Van Griensven et al 2001 in Amsing a Horst, 2008). Existují však i bakterie *Pseudomonas*, které mají pozitivní vliv na tvorbu a vývoj plodnic a inokulace substrátu těmito bakteriemi může zvýšit výnos (Cho et al. 2003 in Amsing a Horst, 2008). Také přítomnost bakterií *Bacillus spp* a *Paenibacillus polymyxa* mají pozitivní účinek, jelikož omezují výskyt bakterií *Trichoderma spp* (Velázquez-Cedeno et al, 2008 Hatvani et al, 2008 in Amsing a Horst, 2008).

3.1.8 Příprava substrátu pro pěstování a jeho sterilizace/pasterizace

Prvním krokem při přípravě substrátu je smíchání všech složek v homogenní směs, k čemuž se používá míchačka. Dále existují dvě možnosti: sterilizace v mase nebo sterilizace naplněných nádob.

1. **Sterilizace v mase** (bulk sterilisation) – ekologičtější a ekonomičtější metoda, která je vhodná zejména pro velkovýrobní a využívá ji například holandská společnost CNC Exotic Mushrooms, která je největším producentem substrátu pro pěstování jedlých hub v Evropě. Tato metoda vyžaduje větší mechanizaci a méně ruční práce. Nejprve se provede sterilizace materiálu ve vertikální dvouplášťové nádobě s vnitřním mícháním a teplotou 105 °C a takto sterilizovaný substrát se po zchlazení naočkuje sadbou a ihned plní do sáčků s mikrofiltrem nebo mikroperforací.
2. **Sterilizace v autoklávu** – Substrát se nejdříve plní do nádob (sáčky s mikrofiltrem, sáčky s mikroperforací, plastové lahve uzavřené vatovou nebo molitanovou zátkou nebo jiné nádoby). Zátka a mikrofiltr slouží k výměně plynů s okolním prostředím. Naplněné nádoby se sterilizují v autoklávu a teprve potom očkují sadbou.

Takto naplněné a ošetřené sáčky jsou připravené k prorůstání myceliem.

Nádoby s neošetřeným substrátem je vždy třeba sterilizovat nebo pasterizovat. Postupy se u jednotlivých pěstitelů mírně liší v teplotě a délce doby ošetření.

Pilzgarten GmbH (Kynast, 2004) používají ošetření při teplotě 100 °C po dobu 10–24 hod nebo sterilizaci při teplotě 121°C. Další možností je dvojitá pasterizace v co nejkratším časovém intervalu – nejprve pasterizace masy při teplotě 70 °C po dobu 10–12 hodin a poté naplnění do sáčků a další pasterizace při teplotě 90 °C po dobu 10–12 hodin (Kynast, 2004).

3.1.9 Sadba a očkování

Jako sadba se nejčastěji používá zrnitá sadba (pšenice). Životnost zrnité sadby je při dobrém chlazení dva až tři měsíce, snadno a rychle se rozrůstá, má větší aktivní povrch než sadba na kolíčcích. Sadba na kolíčcích, která se používá například pro pěstování hlívy ústříčné má delší životnost, při dobrém chlazení vydrží přibližně jeden rok (Šavelka, 2016). Lze použít i naočkováná párátka.

3.1.10 Klimatické podmínky pro růst hlívy královské

Hlíva máčková je houba velice citlivá na podmínky pěstování. Sterilizace nebo pasterizace substrátu, optimální teplota, vlhkost vzduchu a substrátu, koncentrace CO₂, cirkulace vzduchu, osvětlení a hygiena mají podstatný vliv na její pěstování. Správné nastavení těchto parametrů je zásadní pro růst hub a dosažení optimálních výnosů. Hodnoty používané v praxi se u různých pěstitelů mírně liší.

Hlíva máčková, stejně jako většina kmenů rodu *Pleurotus*, vyžaduje pro optimální růst mycelia pH 5 - 6,5, teplotu kolem 25–27 °C (Romanens, 2008), s rostoucí teplotou nad 25 °C rychlost prorůstání klesá (Zharare et al., 2010) a letální teplota je 40 °C při působení po dobu 24 hodin (Romanens, 2004).

Teplota pro růst plodnic se pohybuje v rozmezí 12–16 °C, osvětlení 125 lux a optimální množství CO₂ je 4000 ppm pro tvorbu plodnic a 600 ppm pro jejich dorůstání (Romanens,

2004). Floriano Ferri (Romanens, 2004) uvádí teplotu pro růst mycelia 25–30 °C, pro tvorbu plodnic 18–20 °C, množství CO₂ pro tvorbu plodnic 800 ppm a u deformovaných plodnic 2000 ppm, vlhkost vzduchu 80–90 % a osvětlení 125–275 luxů po dobu 12 hodin denně. Vegetech AG (Collaud, 2004) doporučoval v roce 2004 teplotu pro tvorbu plodnic 13,5 - 14 °C, vlhkost vzduchu 85–90 °C, slabou cirkulaci vzduchu, obměnu vzduchu – 20krát za den odsátí vzduchu, 30–85 % čerstvého vzduchu a koncentraci CO₂ 500 ppm.

Gross 2016 doporučil následující optimální podmínky pro pěstování hlívy máčkové: pro prorůstání mycelia potřeba osvětlení, teplota substrátu 24–28 °C, cirkulace vzduchu 10krát za hodinu, pro tvorbu plodnic osvětlení, vlhkost vzduchu v 90–95 %, maximální teplota vzduchu 18 °C, maximální teplota substrátu 22 °C, koncentrace CO₂ do 1000 ppm, rovnoměrně proudící vzduch rychlostí 5–30 cm/s, cirkulace vzduchu 3–7krát za hodinu.

3.1.11 Pěstování a sklizeň

Hlíva máčková se pěstuje v sáčcích, lahvích nebo kontejnerech. V Evropě se z 80 % pro pěstování používají sáčky s mikrofiltrem a mikroperforací, pouze 20 % lahve (Gross, 2016). Při pěstování v sáčcích dochází k tvorbě plodnic postupně po dobu 7–12 týdnů (Braun, 2016).

3.1.12 Vyplozený substrát a jeho využití

Pleurotus eryngii je houba, která se při komerčním pěstování sklízí obvykle v jedné vlně a poté je třeba vyplozený substrát zlikvidovat nebo použít k jiným účelům. Z ekologických a ekonomických důvodů je tedy pro pěstitele vhodné najít způsob, jak s vyplozeným substrátem naložit.

Výhodou je, že produkce hub téměř nevytváří odpad zhoršující životní prostředí a vyprodukovaný odpad lze opět využít v zemědělství. Vyplozený žampionový substrát se osvědčil jako výborné hnojivo v zemědělství, vyplozený substrát po hlívě ústříčné lze využít jako doplněk do krmiva pro skot a prasata. To je dáno tím, že enzymatická činnost houby dokáže narušit lignin a celulózu ve slámě a zvyšuje její stravitelnost (Šašek, 2006).

Vyplozený substrát z pěstování hub *Pleurotus* lze využít také jako substrát pro pěstování sazenic, palivo, stelivo nebo krmivo, prostředek k obnově kontaminovaných půd, vylepšení půdní struktury atd. (Nakatsuka et al., 2016).

V Asii na menších farmách, kde se do přístrojů na sterilizaci substrátu využívá jako palivo dřevo, by mohl sloužit vyplozený substrát jako biopalivo pro výrobu energie. Z každého 1 kg substrátu po 5–6 měsících plození zbyde zhruba 0,4 kg materiálu. Složení vyschlého vyplozeného substrátu je přibližně 60 % celulózy, 20 % hemicelulózy a 20 % ligninu a výhřevnost je 18 MJ/kg (Tippayawong et al., 2011).

3.1.13 Pěstování jedlých hub v ekologickém zemědělství

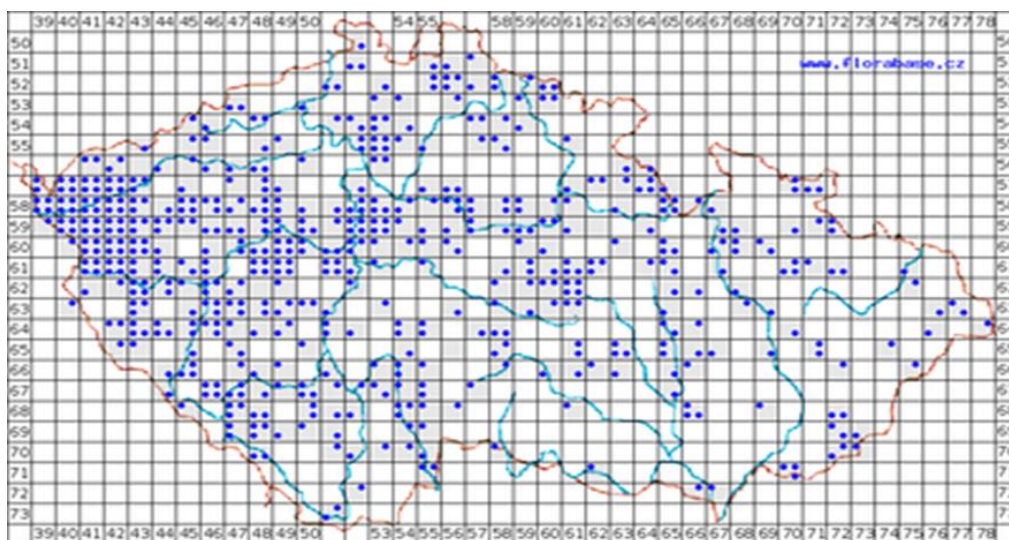
Produkce jedlých hub je činnost vhodná pro zemědělce hospodařících ekologickým způsobem vzhledem k možnosti využití velkého množství zemědělských odpadů. Samotné pěstování hub využívá zemědělských odpadů a vyprodukované odpady jsou v zemědělství znovu využitelné. Dosud bylo popsáno na 200 různých materiálů použitelných k výrobě substrátu pro pěstování hub – př. sláma, piliny, skořápky, slupky, štěpky, listí a kůra stromů, odpad z pěstování kukuřic, slunečnic, brambor, zeleniny, hnůj aj. Podle statistických údajů organické odpady zemědělství a lesnictví představují ročně 600 miliard kg, z nichž by se dalo teoreticky vyrobit 360 miliard kg čerstvých plodnic (Jablonský a Šašek, 2006).

Poptávka po ekologických produktech roste, a i v oblasti produkce jedlých hub přibývá pěstitelů, kteří se snaží pěstovat ekologickým způsobem. Produkci jedlých hub v biokvalitě se v Evropě zabývá několik pěstitelů. Jsou to například německé společnosti Lehr Bio Speisepilzkulturen a Lan Biofunghi, nebo švýcarská Fine Funghi AG (pěstitel Patrick Romanens), holandská společnost Verbruggen paddestoelen b.v. (pěstitel John Verbruggen), Pilzgarten a toto odvětví s rostoucí poptávkou po bioproduktech stále roste.

Pro ekologické pěstitelé hub vyplývají ze Zákona o ekologickém zemědělství č.242/200 Sb. určitá omezení. Pěstitel nemůže pěstovat souběžně ekologické a konvenční kultury, suroviny pro přípravu substrátů musí pocházet z ekologického hospodářství, substráty nesmějí být chemicky ošetřeny a je zakázáno používat chemické prostředky proti chorobám a škůdcům. Pěstitel, který hodlá podnikat v ekologickém zemědělství musí podat žádost o registraci (Jablonský a Šašek, 2006).

3.2 Bolševník velkolepý

Bolševník velkolepý je dvouletá až vytrvalá aromatická rostlina z čeledi miříkovité (*Apiaceae*) dorůstající výšky až 5 m. Bolševník pochází z Kavkazu, odkud byl do Evropy dovezen jako dekorativní rostlina začátkem 19. století a záměrně vysazován (Kolektiv autorů BÚ AV ČR v.v.i., LÚ VUT Brno, Gisat s.r.o., 2014). V České republice byl poprvé vysazen knížetem Metternichem roku 1862 v zámeckém parku Kynžvart (Pyšek 1991), poté zdivočel a rozšířil se po celé republice.



Obr. č. 1. Mapa rozšíření bolševníku velkolepého v České Republice (www.invazirostliny.cz, 2014).

Bolševník patří mezi 100 nejinvazivnějších druhů rostoucích v Evropě a je jedním z nejproblematictějších. V ČR je zařazen do druhové skupiny BL1 – neofytní byliny s největší mírou škodlivosti. Je schopen růst v nejrůznějších klimatických podmínkách, přičemž nejinvazivnější je v regionech s chladným, vlhkým klimatem, připomínajícím jeho přirozený areál. Šíří se rychle bez ohledu na charakter původní vegetace a stanovištní podmínky. Za vhodných podmínek vytváří velkoplošné porosty, častěji ale tvoří menší skupinky podél cest a vodních toků (Kolektiv autorů BÚ AV ČR v.v.i., LÚ VUT Brno, Gisat s.r.o., 2014).

Rostlina se velmi dobře rozmnožuje a je schopna vytlačit naši původní vegetaci, jelikož zde nemá přirozené nepřátele. Jako původně kavkazská horská rostlina vyžaduje v zimě chlad, aby semena vyklíčila. Pro klíčení semen je nutná stratifikace chladem. Většina z nich (přes 90 %) vyklíčí brzy na jaře po 1. zimě. Zbývá semena tvoří krátkodobou semennou banku, po třetím roce zůstává asi jen 1 % živých a dormantních semen (Moravcová a kol., 2006) a životnost semen je sedm let. Rozmnožuje se výhradně semeny, kterých vytváří na jedné rostlině až

100 000 (Tiley a kol., 1996), proto je třeba zabránit jejich produkci. Navíc uvnitř jednoho okolíku může příležitostně docházet ke geitonogamnímu samoopylení (opylení jiným květem téže rostliny). Tato strategie může mít pro invazní druh zásadní význam při kolonizaci nové lokality, kde se jiný jedinec ještě nevyskytuje (Perglová a kol. (2006).

Likvidace bolševníku je náročná, lze jej odstraňovat mechanicky či pastvou, avšak jediná dosud účinná metoda je aplikace vhodného selektivního herbicidu nebo přeseknutí kořene asi patnáct centimetrů pod kořenovým krčkem. Důležitá je následná kontrola stanoviště ještě nejméně 10 let po účinné likvidaci, aby se invaze znovu neobjevila (Kolektiv autorů BÚ AV ČR v.v.i., LÚ VUT Brno, Gisat s.r.o., 2014).

Bylo proto naší snahou najít vhodný ekologický způsob likvidace bolševníku a zabránit jeho dalšímu šíření. K tomu jsme použili kulturu hlívy máčkové.

4 Materiál a metody

4.1 Pěstování hlívy máčkové na lignocelulózních odpadech

Předmětem pokusů bylo pěstování hlívy máčkové (*Pleurotus eryngii*) na lignocelulózních odpadech. Bylo provedeno celkem pět samostatných pokusů, zaměřených na možnosti složení a teplotního ošetření substrátů složených z lignocelulózních odpadů za použití různých kmenů hlívy máčkové. Byl studován vliv složení substrátu na schopnost mycelia prorůstat substrátem a na výnosy.

4.1.1 Materiál

K založení pokusů byly použity plastové sáčky s mikrofiltrem, experimentální plastové nádoby o objemu 2,3 l a výšce 15 cm s víčkem opatřeným molitanovou zátkou. Molitanová zátka a mikrofiltr slouží k výměně plynů mezi substrátem a okolím. Hmotnost substrátu v kyblících byla 800 g a v pytlích 2000 g, hmotnosti se lehce lišily v závislosti na složení substrátu a jsou uvedené u jednotlivých pokusů.

K teplotnímu ošetření substrátu byla použita propařovací skříň.

Propařovací skříň

Propařovací skříň je zhotovena z PUR panelů (síla 70 mm) a její vnitřní plocha je z nerez plechu. Jednotlivé panely jsou spojeny L profily. Propařovací skříň je opatřena kolečky. Uvnitř komory se nachází konstrukce s výstupky, na kterých je umístěno 7 podlažek ze sítě umožňující prostup páry mezi podlažkami. Do jednoho podlaží je možné umístit 12 experimentálních nádob se substrátem. Celkový počet experimentálních nádob, které se dají do komory umístit je 96 po 3 kg. Celkové množství substrátu, které je možno ošetřit je 288 kg. Komora je uzavřena deskou s panty a celý prostor okolo dveří je parotěsně uzavřen. Do komory je zaveden přívod páry z vyvíječe. Shora je do komory umístěn rotor ventilátoru, který zajišťuje promíchávání vzduchu uvnitř komory. K zajištění teploty uvnitř komory je použit zdroj o výkonu 12 kW.

Sadba

Pokusy byly očkované zrnitou sadbou (sadbou narostlou na zrnech pšenice) z následujících kmenů:

P. eryngii – kmen *Eryngii* původ Jižní Korea

P. eryngii – kmen *Bailingu* – původ Čína

P. eryngii – kmen Kurdějov – původ Česká Republika

P. nebrodensis – hlíva sicilská – původ Čína

4.1.2 Metody

Příprava substrátu

V pokusech byly testovány různé druhy substrátů z lignocelulózových odpadů – slaměné pelety a dřevní piliny (bukové piliny, smrkové piliny, fermentované smrkové piliny s přídavkem 5 % fugátu, fermentované smrkové piliny bez přídavku 5 % fugátu) obohacené nebo neobohacené o pšeničné o otruby či jiné přídavky v různém poměru a voda.

Jednotlivé složky substrátu se smíchaly ve velké plastové nádobě s teplou vodou pro dosažení správné vlhkosti. Přesná hodnota sušiny u každé varianty byla stanovena při teplotě 105 °C a následně upravena na optimální vlhkost 68 %.

Fermentace smrkových pilin

V některých pokusech byly testovány fermentované smrkové piliny. Ty byly za tímto účelem připravené na pokusné stanici KAVR v Červeném Újezdě.

Pro fermentaci bylo použito 200 kg smrkových pilin. Nejprve bylo odebráno několik reprezentativních vzorků z různých míst substrátu a sušením při teplotě 105 °C za účelem stanovení vlhkosti pilin. Po stanovení sušiny bylo k pilinám přidáno potřebné množství vody pro dosažení výsledné vlhkosti 50 % po celou dobu fermentace. Piliny s vodou byly důkladně promíchány v míchačce, aby bylo zajištěno rovnoměrné provlhčení. Byla připravena varianta s

přídavkem 5 % fugátu a varianta bez fugátu. Materiál byl následně naplněn do speciálně upravených sudů, do kterých je možné vhánět vzduch s regulací tlaku a naplněné sudy byly umístěny do místnosti o teplotě 30 °C.

Piliny byly fermentované po dobu 3, 6 a 9 týdnů, od každé varianty byla varianta s přídavkem a bez přídavku 5 % fugátu. Takto připravené piliny, přesypané do plastových pytlů, byly skladované při teplotě 4 °C do doby použití. Po dobu fermentace se dbalo na udržení konstantní vlhkosti substrátu a v případě potřeby byl substrát opět promíchán a doplněn o potřebné množství vody.

Plnění substrátu do nádob

Připraveným substrátem byly naplněny plastové experimentální nádoby 3 cm pod okraj nádoby (byl ponechán prostor pro sadbu) a plastové sáčky pod okraj mikrofiltru. Experimentální nádoby byly uzavřeny víčkem s molitanovou zátkou a sáčky zataveny.

Tepelné ošetření nádob

Naplněné nádoby byly umístěny do propařovací skříně a při teplotě 90 °C se po dobu 24 nebo 48 hodin (podle pokusu) nechaly sterilizovat. Sterilizované nádoby se po vyndání z propařovací skříně nechaly zchladnout v místnosti o teplotě 24 °C.

Očkování sadbou

Vychladnutý substrát byl naočkován zrnitou sadbou hlívy máčkové. Očkování probíhalo ve flow boxu, aby se snížilo riziko kontaminace konkurenčními mikroorganismy. Naočkované nádoby byly ponechány v místnosti o teplotě 24 °C za účelem prorůstání mycelia substrátem.

Měření intenzity prorůstání mycelia

Po 10 dnech se provedlo první měření prorůstání mycelia substrátem, a to na čtyřech osách každé nádoby. Druhé měření se pak provedlo po kompletním prorostení prvního, nejrychleji prorostlé experimentální nádoby. Tímto se dala sledovat rychlost prorůstání u různých druhů substrátů. Rychlost růstu u této houby je velmi důležitá, jelikož rychle prorostlý substrát lze dříve umístit do pěstírny a omezit tak riziko kontaminace substrátu konkurenčními houbami.

Sledování výnosů

U některých pokusů byly prorostlé nádoby umístěny k plodnosti do pěstírny. Sledovalo se několik variant – otevřené nezakryté nádoby, pokrytí substrátu 2 cm vrstvou zeminy, prokypření svrchní vrstvy substrátu a zakrytí zeminou, a nádoby zaklopené jinou experimentální nádobou.

Podmínky v pěstírně byly nastaveny takto: osvětlení 1000 luxů, teplota 12 °C a vlhkost vzduchu 90-96 %.

Sklizené houby byly zváženy za účelem porovnání výnosů a výnosy byly přepočítány na 1 kg substrátu, aby bylo možné snadno porovnat výnosy z experimentálních nádob o různém objemu.

Vzhledem k technickým problémům v nové pěstírně nebylo možné u prvních dvou pokusů měřit výnosy, proto se u nich testovalo pouze prorůstání mycelia. Další pokusy již byly umístěny k plodnosti.

Zhodnocení výsledků měření

Pro statistické zhodnocení výsledků měření prorůstání mycelia a porovnání výnosů jednotlivých variant byl použit program Statistica 12 od společnosti StatSoft.

4.1.3 Pokusy

Jednotlivé pokusy, jejich průběh a výsledky jsou popsány níže.

4.1.3.1 Pokus 1

Vliv fermentovaných pilin na růst mycelia a porovnání s pilinami bukovými.

Předmětem pokusu bylo ověřit použití fermentovaných smrkových pilin pro pěstování hlívy máčkové. V pokusu byly použity tři varianty fermentovaných smrkových pilin – piliny fermentované po dobu 3, 6 a 9 týdnů, dále stejné varianty s přidavkem 5 % fugátem a pro kontrolu a porovnání nefermentované smrkové a nefermentované bukové piliny. Všechny varianty byly obohaceny 20 % pšeničných otrub. Testování probíhalo v experimentálních nádobách. Od každé varianty byly naplněny 4 experimentální nádoby o hmotnosti 800 g.

Varianty:

F3	Fermentované smrkové piliny (3 týdny) s fugátem	20 % pšeničných otrub
F6	Fermentované smrkové piliny (6 týdnů) s fugátem	20 % pšeničných otrub
F9	Fermentované smrkové piliny (9 týdnů) s fugátem	20 % pšeničných otrub
B3	Fermentované smrkové piliny (3 týdny)	20 % pšeničných otrub
B6	Fermentované smrkové piliny (6 týdnů)	20 % pšeničných otrub
B9	Fermentované smrkové piliny (9 týdnů)	20 % pšeničných otrub
S	Nefermentované smrkové piliny	20 % pšeničných otrub
B	Nefermentované bukové piliny	20 % pšeničných otrub

4.1.3.2 Pokus 2

Vliv fermentovaných pilin obohacených a nebohacených otrubami na růst mycelia a porovnání s nefermentovanými smrkovými pilinami a pilinami bukovými.

Ve druhém pokusu byly testovány různé varianty 6 týdnů fermentovaných smrkových pilin – bez fugátu, s fugátem, obohacené 20 % pšeničných otrub; nefermentované smrkové piliny, bukové piliny a bukové piliny obohacené 20 % pšeničných otrub. Od každé varianty byly naplněny 2 experimentální nádoby o hmotnosti 750 g. Testoval se vliv obohacení otrubami na růst mycelia.

Varianty:

F6	Fermentované smrkové piliny (6 týdnů)	
F6 + fugát	Fermentované smrkové piliny (6 týdnů) s fugátem	
F6 + otruby	Fermentované smrkové piliny (6 týdnů) s fugátem	20 % pšeničných otrub
S	Nefermentované smrkové piliny	
B	Bukové piliny	
B + otruby	Bukové piliny	20 % pšeničných otrub

4.1.3.3 Pokus 3

Porovnání obohacení pilin listnatého dřeva a slaměných pelet otrubami za použití dvou asijských kmenů *P. e. Eryngii* a *P.e. Bailingu*.

Ve třetím pokusu byl testován růst podhoubí a výnos dvou kmenů hlívy máčkové – *Eryngii* a *Bailingu* na substrátu z pilin listnatého dřeva obohaceném 20 % pšeničných otrub a substrátu ze slaměných pelet obohacených 20 % pšeničných otrub. Polovina substrátu byla ošetřena při teplotě 90 °C po dobu 24 hodin, druhá polovina při stejné teplotě po dobu 48 hodin. Další den, po zchladnutí, byl substrát naočkován kmeny *P. e. Eryngii* a *P.e. Bailingu*.

Od každé varianty bylo naplněno 12 ks experimentálních nádob a 12 ks plastových sáčků, z nichž polovina byla naočkována kmenem *P. e. Eryngii* a polovina kmenem *P.e. Bailingu*.

Varianty:

1	Bukové piliny	20 % pšeničných otrub
2	Slaměné pelety	20 % pšeničných otrub

U pokusu byla nejprve změřena intenzita prorůstání mycelia obdobně jako u předchozích pokusů. Po kompletním prorostení substrátu byl pokus umístěn do pěstírny.

Ačkoliv se na některých nádobách začaly objevovat první plodnice již po několika dnech, většina neplodila vůbec nebo plodnice rostly ze spodu a ze strany nádoby a tím byly značně deformované. U několika nádob se také začala objevovat zelená plíseň. Příčinou problému nebylo možné vysvětlit.

Vzhledem k těmto komplikacím bylo nutné přizpůsobit podmínky, aby substrát začal plodit. Následně byly tedy neplodící nádoby zakryty 2 cm vrstvou zeminy, která se běžně používá pro pěstování žampionů a lehce pokropeny vodou. Experimentální nádoby, v nichž rostly plodnice na spodu, byly vyjmuty a otočeny. Po tomto opatření se část plodnic vyvíjela normálně a část plodnic byla deformována.

4.1.3.4 Pokus 4

Vliv fermentovaných pilin na růst mycelia a výnos a porovnání s pilinami bukovými za použití kmenů *P.e. Eryngii* a kmenu Kurdějov.

V tomto pokusu se porovnávalo prorůstání mycelia na substrátech z bukového dřeva a fermentovaného smrkového dřeva s fugátem a bez fugátu. Všechny varianty byly obohaceny pšeničnými otrubami. Čtyři varianty S + O, B + O, F6 + F + O a F6 + O se očkovaly kmenem *P.e. Eryngii* a varianta KUR kmenem Kurdějov. Od každé varianty bylo naplněno substrátem

10 experimentálních nádob o hmotnosti 750 g a 2 plastové sáčky o hmotnosti 1600 g. Od varianty KUR to bylo 8 experimentálních nádob o hmotnosti 800 g.

Po kompletním prorostení myceliem byly nádoby se substrátem umístěny do pěstírny. Plastové sáčky byly po otevření prokypřeny na povrchu, zakryty 2 cm vrstvou zeminy, která se používá pro pěstování žampionů a lehce pokropeny vodou. Pokus B + O + KUR v experimentálních nádobách byl zakryt zeminou.

Polovina experimentálních nádob se substrátem (5 ks) od každé varianty byla zakryta zeminou a polovina (5 ks) zakryta prázdnou experimentální nádobou za účelem omezení proudění vzduchu. Nádoby zakryté jinou nádobou však neplodily, proto byly dodatečně prokypřeny na povrchu a zakryty zeminou obdobným způsobem jako ostatní nádoby. Dodatečné zakrytí však nepomohlo. Nádoby zakryté zeminou také neplodily. Příčinou problému nebylo možné vysvětlit. Hodnotily se tedy pouze výnosy u varianty v sáčcích.

Varianty:

S + O	Nefermentované smrkové piliny	20 % pšeničných otrub
B + O	Bukové piliny	20 % pšeničných otrub
F6 + F + O	Fermentované smrkové piliny s fugátem	20 % pšeničných otrub
F6 + O	Fermentované smrkové piliny	20 % pšeničných otrub
B + O (KUR)	Bukové piliny	20 % pšeničných otrub Sadba Kurdějov

Vzhledem k tomu, že byl pokus z velké části zlikvidován z důvodu kontaminace mikroskopickými houbami, nebylo možné zjistit výnosy u všech variant, a proto byl pokus zopakován.

Složení substrátů jednotlivých variant zůstalo stejné. Před umístěním do pěstírny byl povrch všech nádob prokypřen do hloubky 1 cm, zakryt 2 cm vrstvou zeminy a lehce pokropen vodou.



Obr. č. 2. Sáček zakrytý zeminou.



Obr. č. 3. Experimentální nádoba zakrytá zeminou.

4.1.3.5 Pokus 5

Porovnání výnosů *P. eryngii* na substrátu z bukových pilin obohacených o 20 % otrub, plněných do experimentálních nádob a plastových sáčků.

V posledním pokusu byl použit substrát z bukových pilin obohacený o 20 % pšeničných otrub k porovnání výnosů v plastových experimentálních nádobách a plastových sáčcích. Tento substrát se osvědčil v předchozích pokusech a je velmi dobře kolonizován myceliem.

Substrát byl naplněn do 20 experimentálních nádob o hmotnosti 750 g a 15 plastových sáčků o hmotnosti 2000 g a sterilizován po dobu 24 hodin při teplotě 90 °C.

Povrch všech prorostlých nádob byl před umístěním do pěstírny prokypřen do hloubky 1 cm, zakryt 2 cm vrstvou zeminy a lehce pokropen vodou.

Varianty:

B1	Bukové piliny	20 % pšeničných otrub	EXPERIMENTÁLNÍ NÁDOBA
B2	Bukové piliny	20 % pšeničných otrub	SÁČEK

4.2 Pěstování na rostlinách – pokusy s kultivací hlívy máčkové na bolševníku velkolepém (*Heracleum mantegazzianum*).

Byly provedeny dva pokusy zaměřené na možnosti růstu hlívy máčkové na rostlinách bolševníku velkolepého.

- 1) Inokulace hlívy máčkové do vrcholu kořene bolševníku velkolepého dřevěnými párátky.
- 2) Inokulace hlívy máčkové do vrcholu kořene bolševníku velkolepého dřevěnými tyčkami.
- 3) Inokulace klíčících semen na agaru a peletách v Petriho miskách.

4.2.1 Materiál a metody

Rostliny z lokality Mníšek pod Brdy, kam se bolševník rozšířil, bylo v říjnu 2015 získáno 50 kořenů a přesazeno do květináčů v experimentální zahradě KZ v Praze – Troji. Rostliny se nechaly v květináčích zakořenit, než byly použity k pokusu. V prvním pokusu byla část rostlin očkovaná na stanovišti v Mníšku pod Brdy, část v Troji.

1) V prvních pokusech 6. dubna proběhlo očkování do vegetačního vrcholu rostlin 2-3 párátky na 1 rostlinu. Očkovalo se 20 kořenů tenkými inokulačními párátky do předvrtaného otvoru a 20 kořenů čistými nenačkovanými párátkem pro kontrolu, že případné změny a nekrózy nejsou způsobené pouze narušením kořene párátkem. Jelikož se jedná o velmi tvrdý kořen a mycelium houby se vyskytuje převážně na povrchu inokulačního párátka, bylo potřeba otvor předvrtat, aby byla zajištěna aplikace do vnitřní části kořene. Rostliny inokulované myceliem hlívy máčkové byly označeny červenou páskou, kontrolní rostliny páskou bílou (obr. č. 2 Rostlina inokulovaná párátkem s myceliem, obr. č. 3 Kontrola – rostlina inokulovaná čistým nekolonizovaným párátkem). Současně byly stejným způsobem naočkovány ve školním zahradnictví 3 rostliny myceliem (označeny červenou páskou) a 3 rostliny pro kontrolu čistým párátkem (označeny bílou páskou).

2) Jelikož nebyly na rostlinách pozorovány žádné viditelné změny, pro následný pokus (28.6.2016, Troja) bylo mycelium naočkováno na zašpičatělé tyčky o síle 5 mm a po jedné tyčce byly zapíchnuty do vegetačního vrcholu. Takto byly naočkovány 3 rostliny, 4 rostliny byly navíc zakryty zeminou a 3 rostliny byly zbaveny listů a zakryty zrnitou sadbou hlívy máčkové. Stejný počet kontrolních rostlin.

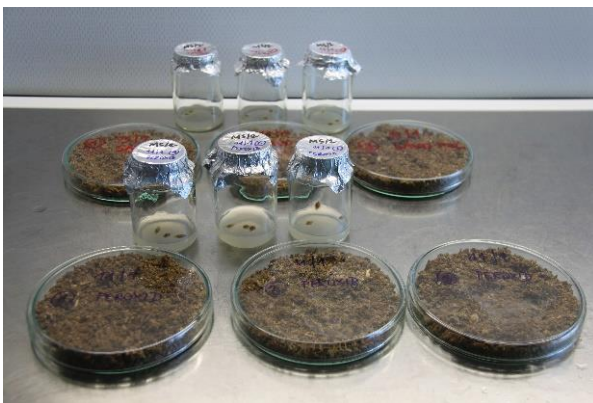


Obr. č. 4. Rostlina inokulovaná párátkem s myceliem (označení červenou páskou)

Obr. č. 5. Kontrola – rostlina inokulovaná čistým nekolonizovaným párátkem (označení červenou páskou)

3) Ve třetím pokusu jsme chtěli porovnat vztah klíčících semen bolševníku a mycelia hlívy máčkové v laboratorních podmínkách. Semena bolševníku získaná z rostlin ze stejného stanoviště jsme stratifikovali po dobu 2 měsíců v 5 °C na vrstvě vlhkého písku na Petriho misce. Polovina naklíčených semen byla dezinfikována v 30 % Savu (NaClO) a polovina v 5 % peroxidu vodíku, po dobu 20 minut. Semena byla poté několikrát propláchnuta sterilní vodou. Takto připravená semena byla po 3 umístěna na předem připravené Petriho misky se slaměnými peletami a skleničky s agarem a umístěna do lednice při teplotě 5° C. Celkem bylo připraveno 6 skleniček s agarem a 6 Petriho misek s peletami (obr. č. 4 a 5). Naším záměrem bylo dezinfikovaná semena naklíčit na agarové půdě a poté k naklíčeným semenům přidat bloček mycelia hlívy máčkové. Jelikož všechny nádoby byly kontaminovány plísněmi, tato část pokusu se již neuskutečnila.

4) Pokus pokračoval sterilizací nových semen obdobným způsobem jako v předešlém případě a zasetím semen do půdy ve skleníku. Klíčící rostlinky byly zakryty vyplozeným substrátem z předchozích pokusů. Jelikož se jedná o dlouhodobý pokus, výsledky tohoto pozorování již nejsou součástí této diplomové práce.



Obr. č. 6. Sterilizovaná semena na peletách a agaru.

Obr. č. 7. Sterilizovaná semena bolševníku velkolepého.

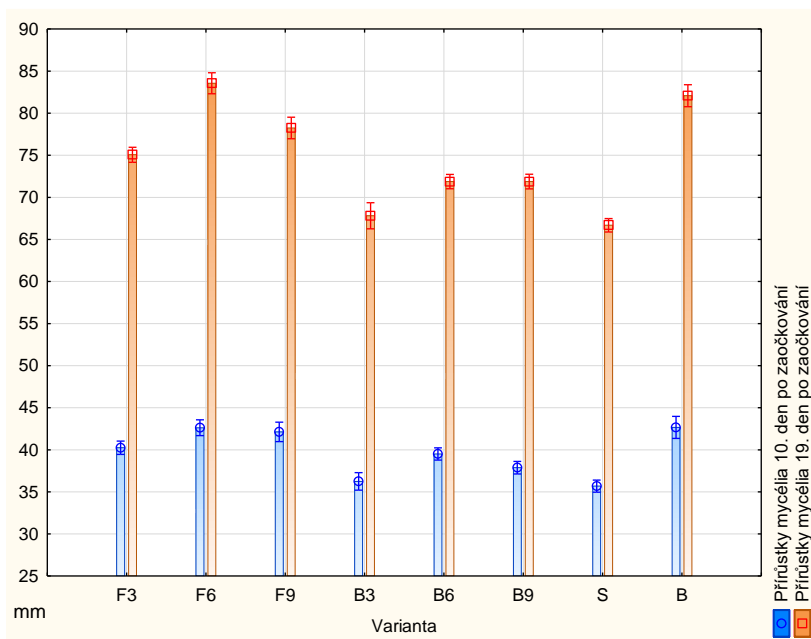
5 Výsledky

Výsledky provedených pokusů jsou podrobně popsány níže. Obsahují slovní a grafické zhodnocení a statistické zhodnocení pomocí grafického výstupu ze systému Statistica 12.

5.1 Pokus 1

Z grafu č.1 je zřejmé, že nejrychleji byl kolonizován substrát varianty F6 – smrkové piliny fermentované po dobu 6 týdnů s přidavkem 5 % fugátu (kompletní prorostení za 19 dní od zaočkování) a varianty B – nefermentované bukové piliny. Nejnižší přírůstky byly zaznamenány u varianty S – nefermentované smrkové piliny. Na růstu mycelia se příznivě projevila fermentace s přidavkem fugátu. Ukázalo se, že optimální doba fermentace je 6 týdnů. Fermentované smrkové piliny bez přidavku fugátu měly přibližně stejné výsledky jako nefermentované smrkové piliny, které byly pravděpodobně z důvodu vysokého obsahu silic méně vhodné.

Bylo dosaženo statisticky významných rozdílů mezi naměřenými přírůstky mycelia u jednotlivých variant. Průkazně vyšší přírůstky byly u variant F6 a B, naopak podstatně nižší přírůstky byly u varianty S.



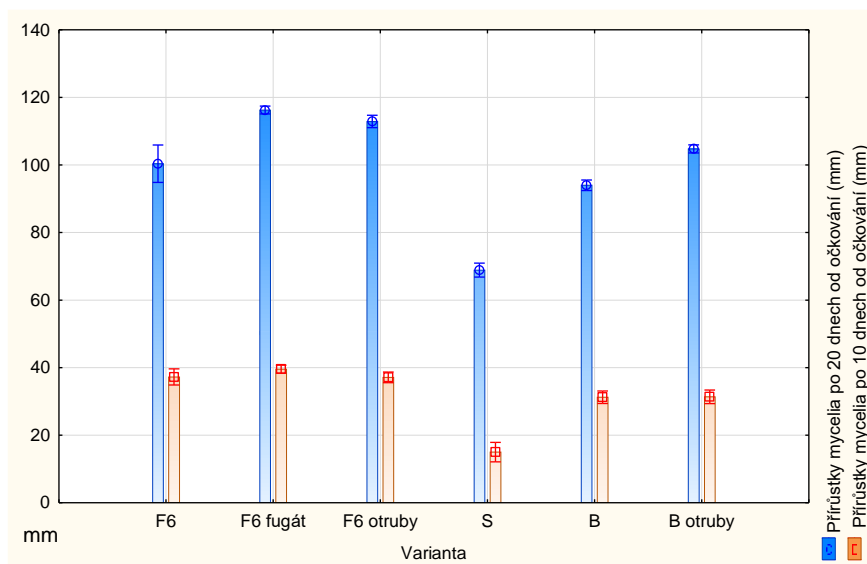
Graf č. 1. Měření rychlosti prorůstání mycelia – porovnání průměrů jednotlivých variant pokusu 1, výstup z programu Statistica 12.

Poznámka: substrát F3 - fermentované smrkové piliny po dobu 3 týdnů + 5% fugát + 20 % otruby, F6 - fermentované smrkové piliny po dobu 6 týdnů + 5% fugát + 20 % otruby, F9 - fermentované smrkové piliny po dobu 9 týdnů + 5% fugát + 20 % otruby, B3 - fermentované smrkové piliny po dobu 3 týdnů + 20 % otruby, B6 - fermentované smrkové piliny po dobu 6 týdnů + 20 % otruby, B9 - fermentované smrkové piliny po dobu 9 týdnů + 20 % otruby, S – smrkové piliny + 20 % otrub, B – bukové piliny + 20 % otrub.

5.2 Pokus 2

Nejlepších výsledků bylo dosaženo u varianty F6 + fugát – fermentované smrkové piliny s přidavkem 5 % fugátu, kde byl přírůstek dokonce vyšší než u bukových pilin obohacených otrubami (kompletní prorostení substrátu za 20 dní od očkování). U fermentovaných smrkových pilin bez fugátu jak obohacených, tak i neobohacených o otruby byla kolonizace substrátu také velmi rychlá. Podstatně nižší hodnoty byly naměřeny u smrkových a bukových neobohacených pilin. Ukázalo se tedy, že obohacení fermentovaných smrkových pilin o otruby má vliv na zvýšení intenzity růstu mycelia. Dále se potvrdilo zjištění z předchozího pokusu, že fermentace smrkových pilin s přidavkem fugátu má vliv na zvýšení intenzity růstu mycelia.

Podrobné výsledky měření ukazuje graf č.2. Z grafu je patrné, že bylo dosaženo statisticky významných rozdílů u jednotlivých variant. U variant F6 fugát a F6 otruby byly průkazně vyšší a u varianty S průkazně nižší přírůstky.



Graf č. 2. Měření rychlosti prorůstání mycelia – porovnání průměrů jednotlivých variant pokusu 2, výstup z programu Statistica 12.

Poznámka: substrát F6 – fermentované smrkové piliny po dobu 6 týdnů, F6 fugát – fermentované smrkové piliny po dobu 6 týdnů + 5 % fugát, F6 otruby – fermentované smrkové piliny po dobu 6 týdnů + 20 % otrub, S – smrkové piliny + 20 % otrub, B – bukové piliny, B otruby – bukové piliny + 20 % otrub.

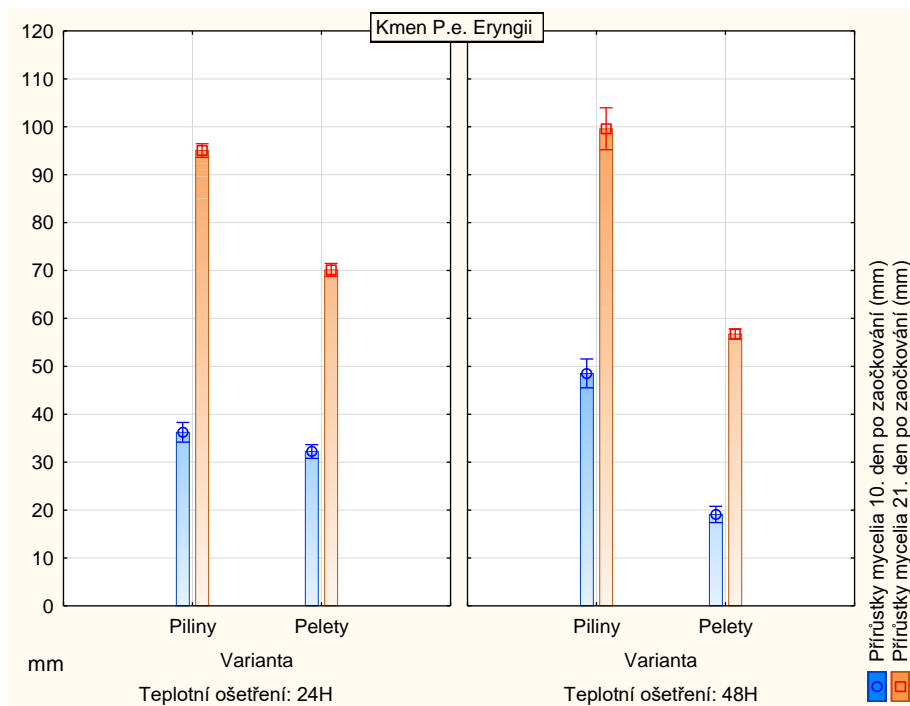
5.3 Pokus 3

V tomto pokusu se hodnotila schopnost mycelia hlívy máčkové kolonizovat substrát z dřevních pilin a slaměných pelet, vliv doby teplotního ošetření substrátu na rychlost kolonizace a schopnost dvou asijských kmenů – *P.e. Eryngii* a *P.e. Bailingu* kolonizovat substrát.

Z grafů č. 3 a 4 je možné vidět, že bylo dosaženo významných statistických rozdílů v růstu mycelia na dřevěných pilinách a slaměných peletách. U obou testovaných kmenů prorostl substrát z bukových pilin obohacený otrubami rychleji než substrát ze slaměných pelet obohacených otrubami, a to v obou případech teplotního ošetření 24 a 48 hodin. Kompletní prorostení substrátu trvalo 21 dní od zaočkování. Z dvou testovaných asijských kmenů má lepší výsledky kmen *P.e. Bailingu*. V první fázi prorůstání (prvních 10 dní) byl výrazně rychlejší, v průběhu dalších 11 dní se rozdíl mírně zmenšil, ale přesto kolonizoval substrát rychleji než *P.e. Eryngii*, jak je patrné z grafu č. 5.

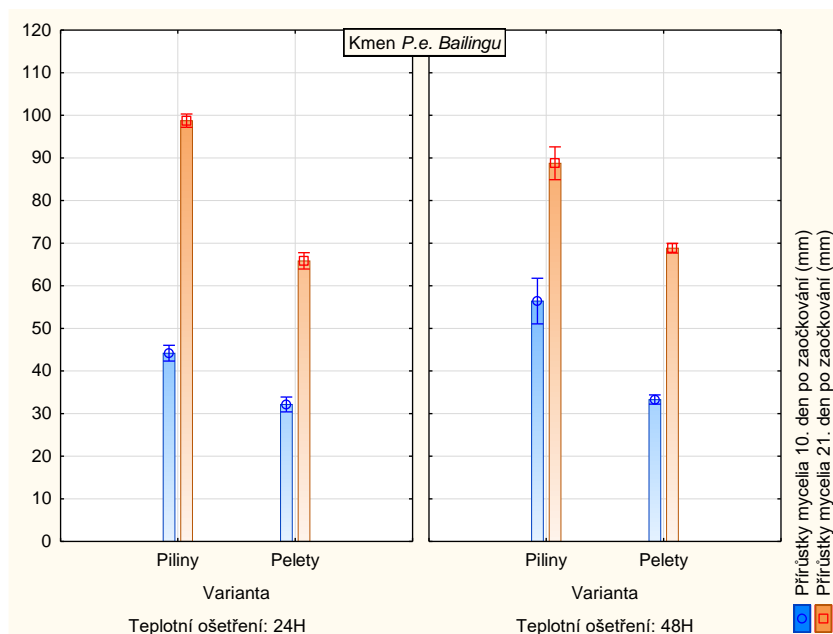
Graf č. 6 porovnává teplotní ošetření při teplotě 90 °C po dobu 24 a 48 hodin. Je zřejmé, že delší doba sterilizace neměla na prorůstání jednoznačně pozitivní vliv. V obou případech teplotního ošetření nádoby prorostly bez kontaminace konkurenčními mikroorganismy. Z grafu je patrné, že na počátku kolonizace, v průběhu prvních 10 dní byla rychlost prorůstání vyšší u substrátu teplotně ošetřeném po dobu 48 hodin, později se však u takto ošetřeného substrátu začala rychlost dokonce zpomalovat a substrát ošetřený po dobu 24 hodin prorostl rychleji. Doba sterilizace 24 hodin je tedy postačující a není nutné dobu prodlužovat.

Z výsledků je zřejmé, že intenzita růstu mycelia byla ovlivněna především složením substrátu. Doba teplotního ošetření a kmen mají menší vliv na rychlost prorůstání.

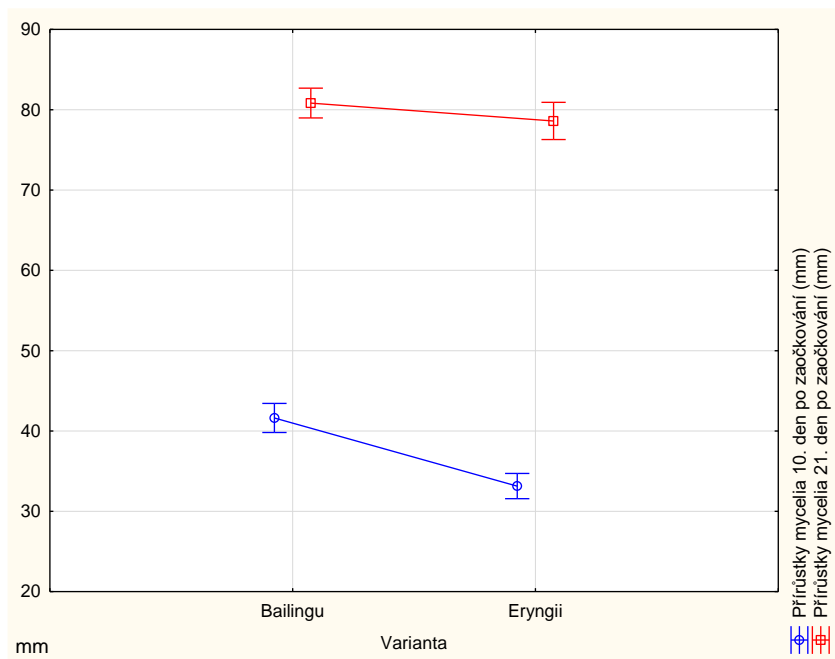


Graf č. 3. Měření prorůstání mycelia u kmene *P.e. Eryngii* – porovnání rychlosti prorůstání na dřevěných pilinách a slaměných peletách při dvou teplotních ošetřeních - 24 a 48 hodin, výstup z programu Statistica 12.

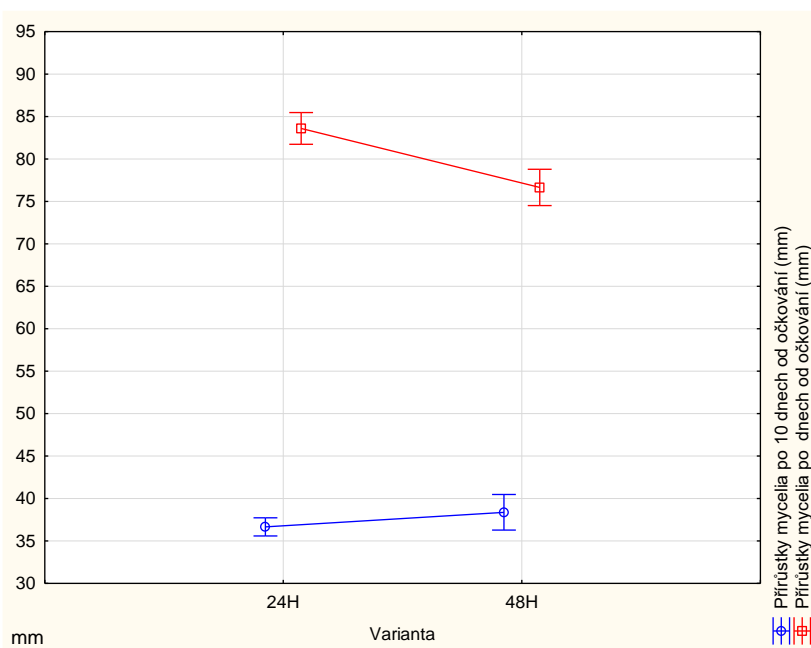
Poznámka: substrát označený jako piliny je složen z bukových pilin obohacených o 20 % otrub, substrát označený jako pelety je složen ze slaměných pelet obohacených o 20 % otrub.



Graf č. 4. Měření prorůstání mycelia u kmene *P.e. Bailingu* – porovnání rychlosti prorůstání na dřevěných pilinách a slaměných peletách při dvou teplotních ošetřeních - 24 a 48 hodin, výstup z programu Statistica 12.



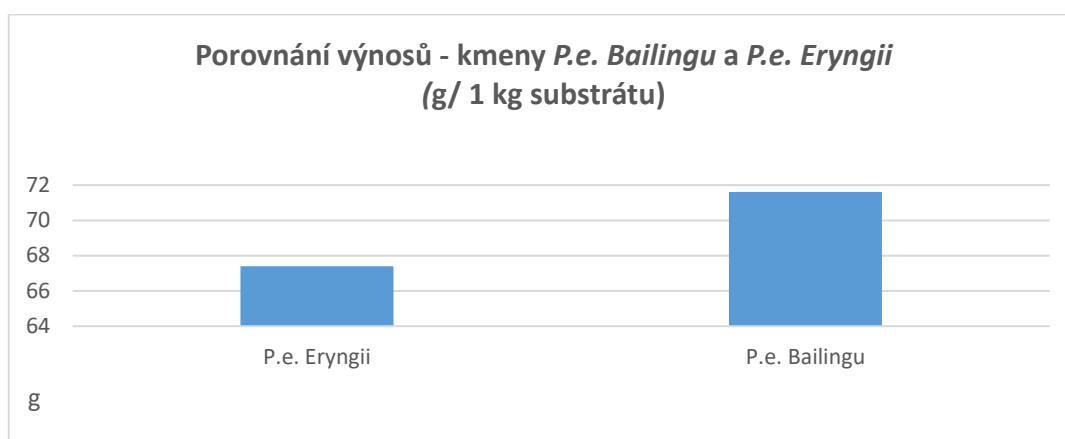
Graf č. 5. Měření prorůstání mycelia u kmenů *P.e. Eryngii* a *P.e. Bailingu* , výstup z programu Statistica 12.



Graf č. 6. Měření prorůstání mycelia u kmenů *P.e. Eryngii* a *P.e. Bailingu* – porovnání rychlosti prorůstání po dvou teplotních ošetřeních - 24 a 48 hodin při teplotě 90 °C, výstup z programu Statistica 12.

U tohoto pokusu se také měřily výnosy. Vzhledem ke komplikacím v pěstírně, které jsou popsány podrobněji v metodické části pokusu, však nebylo možné měřit výnosy u všech pokusných nádob.

Z naměřených výnosů vyplývá, že kmen *P.e. Bailingu* měl mírně vyšší výnosy. Celkový průměrný výnos u variant naočkovaných kmenem *P. e. Bailingu* byl 71,6 g/ 1 kg substrátu a průměrný výnos u kmene *P.e. Eryngii* 67,4 g/ 1 kg substrátu.

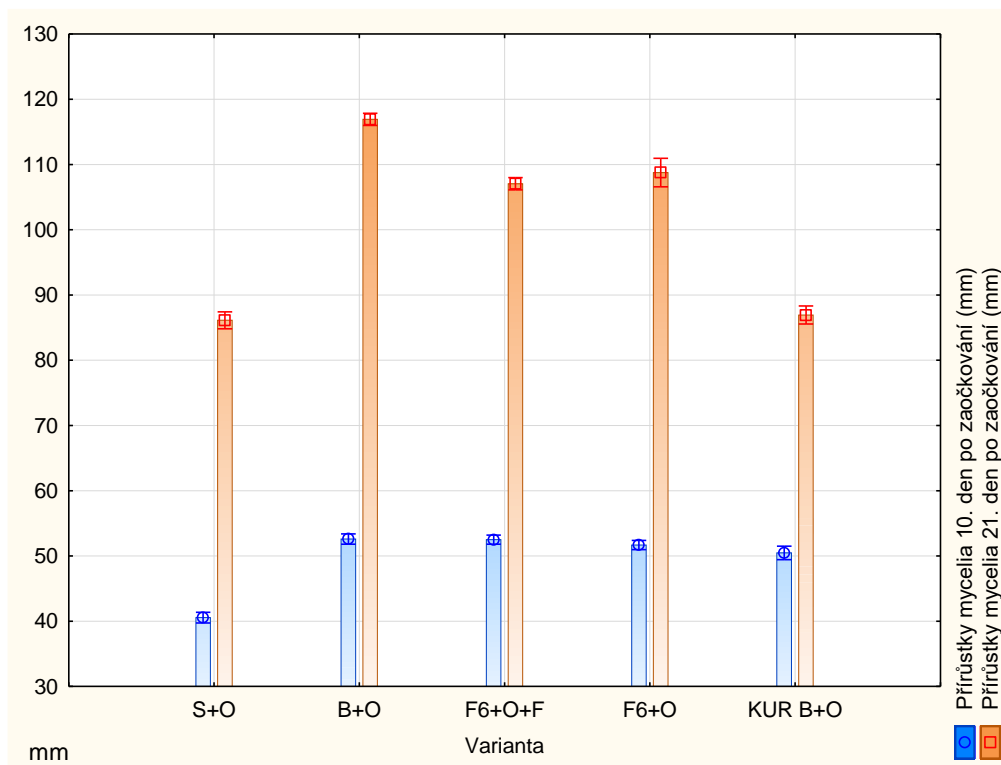


Graf č. 7. Porovnání výnosů u kmenů *P.e. Eryngii* a *P.e. Bailingu*.

5.4 Pokus 4

Z grafu č.8 je viditelné, že v počáteční fázi do 1. měření byly přírůstky vyrovnané, později se projevily rozdíly. Nejvyšší rychlost prorůstání byla pozorována u varianty B + O – Bukové piliny + 20 % otrub, o něco nižší u variant F6 + F + O – Fermentované smrkové piliny s fugátem + 7 % otrub a F6 + O – Fermentované smrkové piliny bez fugátu + 7 % otrub. Nejnižší hodnoty byly naměřené u varianty S + O – Nefermentované smrkové piliny bez fugátu + 20 % otrub. Samotné obohacení smrkových pilin otrubami tedy k dosažení optimálních výnosů nestačí, piliny je třeba předem upravit fermentací.

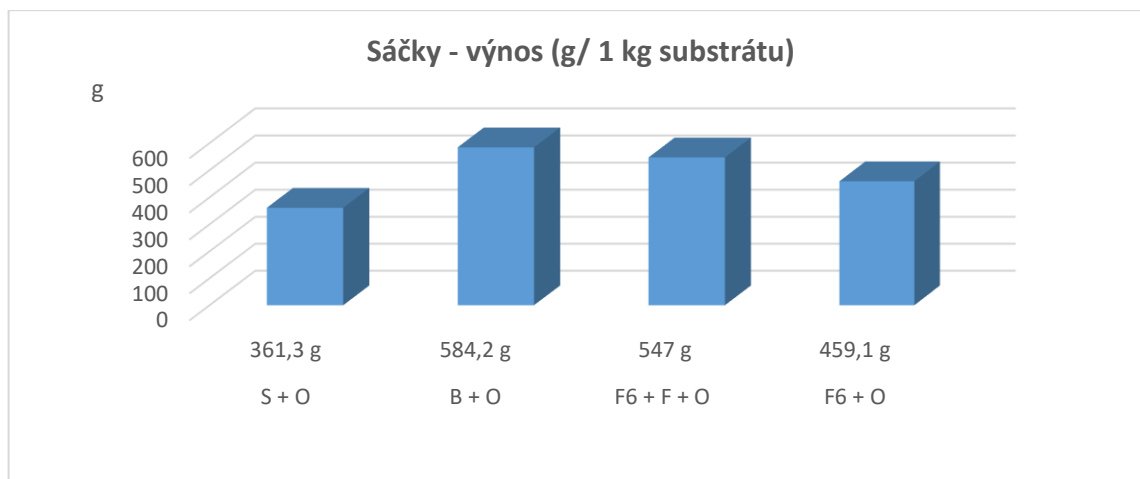
U kmene Kurdějov je z naměřených výsledků možné pozorovat vyrovnaný růst v době prvního měření a větší nevyrovnanost prorůstání mezi jednotlivými nádobami v době druhého měření. Několik experimentálních nádob bylo prorosteno rychleji než nádoby ostatní a z toho důvodu je celkový průměr druhého měření nižší než u ostatních pokusů.



Graf č. 8. Měření rychlosti prorůstání mycelia – porovnání průměrů jednotlivých variant pokusu 4.

Poznámka: substrát S + O – nefermentované smrkové piliny + 20 % otrub, B + O – bukové piliny + 20 % otrub, F6 + F + O – fermentované smrkové piliny + 5 % fugát + 20 % otrub, F6 + O – fermentované smrkové piliny + 20 % otrub, B + O (KUR) – bukové piliny + 20 % otrub očkované kmenem Kurdějov. Všechny varianty byly očkovány kmenem *P.e. Eryngii*, pouze varianta KUR B + O byly očkována kmenem Kurdějov.

U tohoto pokusu se hodnotily výnosy v plastových sáčcích. Nejvyšších výnosů bylo dosaženo u varianty B + O – bukové piliny obohacené otrubami, o něco nižší výnosy byly u varianty F6 + F + O – fermentované smrkové piliny obohacené o fugát a otruby, ještě nižší u varianty F6 + O – fermentované smrkové piliny obohacené pouze o otruby a nejnižší výnosy u varianty S + O – nefermentované smrkové piliny obohacené otrubami. Výše výnosů u jednotlivých substrátů odpovídá výsledkům měření rychlosti prorůstání mycelia. Nejrychleji kolonizovaný substrát měl později také nejvyšší výnosy. U kmene Kurdějov se nevytvořily žádné plodnice. Přehled výnosů plodících variant je znázorněn v grafu č. 9.

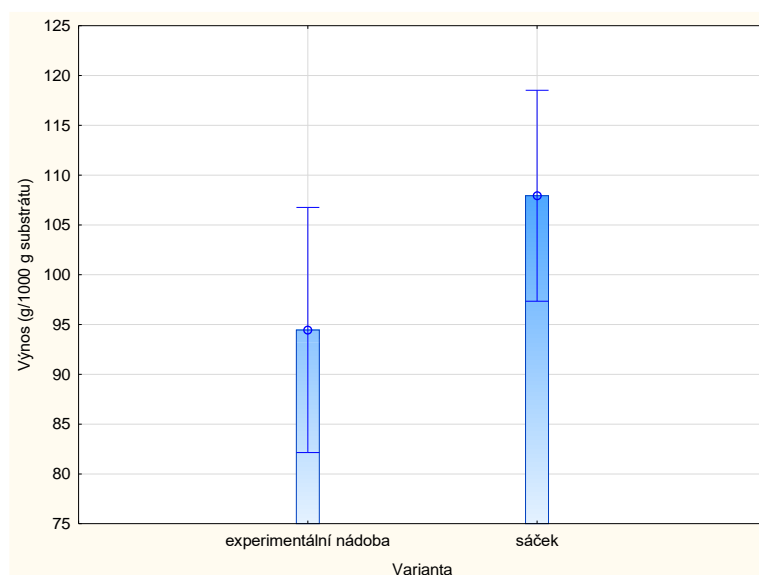


Graf 9: Porovnání výnosů jednotlivých variant pokusu 4 v sáčcích.

Poznámka: substrát S + O – nefermentované smrkové piliny + 20 % otrub, B + O – bukové piliny + 20 % otrub, F6 + F + O – fermentované smrk. piliny + 5 % fugát + 20 % otrub, F6 + O – ferment. smrk. piliny + 20 % otrub.

5.5 Pokus 5

Celkové výnosy plodnic (g/ 1 kg substrátu) u jednotlivých plodících variant byly následující: varianta B1 = 94,4 g a varianta B2 = 107,9 g. Z grafu č. 10 je patrné, že nebyly zjištěny statisticky výrazné rozdíly ve výnosech při pěstování v plastových sáčcích s mikrofiltrem a v experimentálních plastových nádobách.



Graf 10: Měření výnosů plodnic vypěstovaných v experimentálních nádobách a sáčcích, pokus 5.

Poznámka: složení substrátů B1 a B2 je identické: bukové piliny + 20 % otrub.

5.6 Pěstování na rostlinách – pokusy s kultivací hlívy máčkové na bolševníku velkolepém (*Heracleum mantegazzianum*)

Po 4 týdnech bylo provedeno hodnocení vlivu inokulace bolševníků párátky porostlými myceliem. Ukázalo se, že se vliv houby na rostliny neprojevil. Všechny rostliny pokračovaly v růstu bez viditelných změn.

U pokusu s tyčkami se po 4 týdnech výsledky u jednotlivých rostlin lišily. Kontrolní rostliny očkované čistou tyčkou nevykazovaly žádné viditelné změny. U rostlin očkovaných tyčkou s myceliem jsou v několika případech patrné nekrózy, jedna rostlina uhynula a u ostatních rostlin se objevily již po týdnu nové listy a pokračovaly v růstu. Výsledky jsou zdokumentovány vlastními fotografiemi pořízenými v průběhu experimentu.



Obr. č. 6 Po inokulaci pokračovala rostlina v růstu.



Obr. č. 7 Mycelium z kolíčku nekrotizovalo rostlinu.



Obr. č. 8 Zával kořene po inokulaci.



Obr. č. 9 Kompletní nekróza v důsledku mulčování okolí rostl. sadbou.



Obr. č. 10 Počáteční nekrotizace a postupný zával kořene. **Obr. č. 11** Postupný zával kořene.

5.7 Inokulace klíčících semen na agaru a peletách v Petriho miskách

Jelikož všechny nádoby byly kontaminovány plísněmi, zamýšlený pokus se nemohl uskutečnit.

6 Diskuze

Potvrdilo se tvrzení, že pěstování hlívy máčkové je v porovnání s ostatními duhy hlív náročnější, neboť její mycelium roste pomaleji než mycelium hlívy ústřičné. Proto v počáteční fázi kolonizace substrátu je citlivější na případnou kompetici zelených plísní a substrát musí být tepelně ošetřen vyššími teplotami. Také je citlivější na ekologické a jiné faktory jako světlo, teplota, vlhkost, CO₂, pěstební metody a techniky atd. (Kirbag & Akzuy 2008). Během provedených pokusů se dalo sledovat, že pro optimální vývoj plodnic je důležité správné ošetření substrátu před zaočkováním sadbou a nastavení požadované vlhkosti, teploty a proudění vzduchu v pěstírně. Pokud nejsou tyto podmínky zajištěny, zvyšuje se riziko kontaminace substrátu mikroskopickými houbami nebo rostou malé a deformované plodnice, a to má negativní dopad na výnosy.

Podle Zharare et al. (2010) má hlíva máčková nejpomalejší růst mycelia ze všech druhů hlív, a to může být důvodem pro větší náchylnost ke kontaminaci substrátu mikroorganismy.

Bakterie *Pseudomonas spp.* hynou při teplotách 50–60 °C a mají vyšší aktivitu při vlhkostech nad 70 %. Optimální podmínky pro vývoj *Pseudomonas spp.* jsou pH je 7 - 8,5, teplota 25–30 °C a vlhkost vzduchu nad 95 %. Jako prevence se tedy doporučuje ošetřit substrát pasterizací při teplotě vyšší 60 °C, vlhkosti substrátu pod 70 % a nastavit teplotu při prorůstání mycelia pod 25 °C (Van Griensven et al 2001 in Amsing a Horst, 2008). Tyto podmínky byly při provedených pokusech dodrženy.

Teplotní ošetření substrátu před zaočkováním sadbou je tedy velmi důležité. Pilzgarten GmbH (Kynast, 2004) používají ošetření při teplotě 100 °C po dobu 10 - 24hod nebo sterilizaci při teplotě 121 °C. V našich pokusech se testovalo ošetření substrátu při teplotě 90 °C po dobu 24 a 48 hodin. Ukázalo se, že ošetření při 90 °C po dobu 24 hod je postačující, při delší době ošetření se neprokázal pozitivní vliv na schopnost mycelia rychleji kolonizovat substrát a není tedy nutné dobu prodlužovat ani zvyšovat teplotu, což je významné z hlediska úspory energie.

Výnos je zásadně ovlivněn složením substrátu a jeho přísady, zatímco počet a velikost plodnic jsou znaky výrazně ovlivněny kmenem (Estrada a Royse, 2006). Ačkoliv byly naměřeny rozdíly ve výnosech u dvou testovaných kmenů *P.e. eryngii* a *P.e. bailingu*, podstatný vliv na výnos mělo složení substrátu.

Estrada a Royse (2009) doporučují zakrývání zeminou z důvodu lepšího využití substrátu a zvýšení výnosů. Akyuz a Yldiz (2008) tvrdí, že krycí zemina poskytuje zásobu vláhy

pro růst houby a ochranu proti chorobám, ale prodlužuje období tvorby plodnic. Z našich pokusů vyplývá, že pokrytí substrátu zeminou mělo pozitivní efekt na zvýšení výnosů. To bylo pravděpodobně způsobeno tím, že došlo ke zlepšení vlhkostních podmínek substrátu a k omezení nepříznivých podmínek okolního prostředí jako např. proudění vzduchu nebo nepřiměřená vlhkost vzduchu, na které je houba velice citlivá, a které mají při nevyhovujícím nastavení negativní vliv na výnos. Ve většině případů začaly růst plodnice později než u nezakrytých nádob, doba sklizně se však prodloužila z důvodu oddálení kontaminace substrátu konkurenčními organismy. Zakrytí substrátu zeminou tedy ve výsledku mělo příznivý vliv na výnosy.

Estrada a Royse (2008) dále doporučují za účelem vyšších výnosů a rychlejšího nasazení plodnic narušit a lehce prokypřit povrch substrátu po otevření sáčku a jeho umístění do pěstírny. V našem pokusu byl u některých nádob povrch substrátu prokypřen, u jiných nádob navíc zakryt zeminou. Ukázalo se, že samotné prokypření nemělo na konečné výnosy velký vliv a u varianty prokypřené a zakryté zeminou byly srovnatelné s variantou, kdy byl substrát pouze zeminou.

Podle Royse et al. (2008) se sklízí plodnice houby pouze v jedné vlně v porovnání s ostatními hlívkami. To odpovídá výsledkům našich pokusů, kdy sklizeň byla převážně v jedné, maximálně dvou vlnách, poté byl substrát ve většině případech kontaminovaný a pro pěstování nepoužitelný.

Výnos, rychlost růstu mycelia a období tvorby plodnic je ovlivněno zdrojem dusíku a jeho množstvím (Yildiz and Karakaplan, 2003; Kirbag a Akyuz, 2008), proto se za účelem zvýšení výnosu tyto substráty obohacují. Jablonský a Šašek (2006) doporučují piliny z listnatého dřeva obohaceného o různé přísady jako rýžové nebo pšeničné otruby, kukuřičné moučky, bavlníkových tobolek. Z našich výsledků se ukázal substrát z bukových pilin obohacený o 20 % pšeničných otrub jako jeden z nejlepších a potvrdil se tak pozitivní vliv obohacení substrátu otrubami na výnos. V případě neupravených pilin z jehličnatého dřeva mělo obohacení malý vliv na zvýšení výnosů. Smrkové piliny je nejprve nutné upravit fermentací. Obohacení fermentovaných smrkových pilin otrubami mělo pozitivní vliv na schopnost mycelia kolonizovat substrát a na výnosy.

Moonmoon (2010) svými pokusy zjistil, že plodnice vypěstované na rýžové slámě byly větší, u substrátu z dřevěných pilin obohacených o pšeničné nebo rýžové otruby však bylo dosaženo vyšších výnosů a větší biologické efektivity. V námi provedených pokusech byly

porovnány výnosy na bukových pilinách a slaměných peletách obohacených o 20 % otrub. Na pilinách obohacených otrubami byly podstatně vyšší výnosy než na obohacených slaměných peletách.

Dále Moonmoon (2010) ve své studii tvrdí, že různé kmeny *Pleurotus eryngii*. reagují rozdílně na složení substrátu. Rozdíly jsou v rychlosti prorůstání mycelia, výnosu, biologické efektivitě, kvalitě, počtu a velikosti plodnic (Moonmoon et al 2010). Porovnáním dvou asijských kmenů *P.e. Bailingu* a *P.e. Eryngii* na stejných substrátem Kmen *P.e. Bilingu* kolonizoval substrát rychleji a výsledný výnos *P.e. Bailingu* byl také vyšší. Nebyly pozorovány výrazné rozdíly ve velikosti plodnic.

Vzhledem k technickým problémům v pěstírně však byly podmínky pro růst a vývoj plodnic pro většinu pokusů nevyhovující a výsledkem byly nevyrovnané výnosy. Mimo to velká část pokusných parcel byla kontaminovaná mikroskopickými houbami a u některých nádob se objevily plodnice na spodu experimentální nádoby – pravděpodobně z důvodu kolísající vlhkosti vzduchu či nadměrného pohybu vzduchu. Po vyjmutí substrátu z experimentální nádoby a jeho otočení plodnice dále rostly, některé však zůstaly deformované. Na nevhodnou a nerovnoměrnou vlhkost v pěstírně poukazuje i to, že v horních patrech se vyvíjely plodnice lépe než v patrech spodních. Další komplikací byla deformace některých plodnic, což by mohlo poukazovat na vysokou koncentraci CO₂. Romanens (2004) uvádí, že koncentrace CO₂ je velmi důležitá pro vývoj plodnic, množství CO₂ pro tvorbu plodnic 800ppm a u deformovaných plodnic 2000 ppm. Gross (2016) doporučuje koncentraci CO₂ do 1000 ppm.

Co se týká obalů, pro měření růstu mycelia bylo vhodné použít plastové experimentální nádoby. Z hlediska výnosů osvědčili jak plastové sáčky s mikrofiltrem, tak plastové experimentální nádoby opatřené molitanovou zátkou. V obou případech bylo dosaženo srovnatelných výnosů. Sáčky jsou však, jak uvádí Gross (2016) nejpoužívanějším obalem pro pěstování hub v Evropě (80 %).

Co se týká pokusů na kořenech bolševníku velkolepého, porostlá párátká myceliem neměla na vývoj rostliny žádný vliv, rostlina vytvořila nové listy a pokračovala v růstu bez viditelných změn. V případě inokulace porostlými tyčkami o průměru 5 mm byly v některých případech pozorovány nekrózy, k úplnému zahubení rostliny však došlo pouze v jednom případě, kdy se navíc okolí rostliny mulčovalo zrnitou sadbou hlívy máčkové. Je možné, že je to dáno tím, že byl k pokusu použit asijský kmen hlívy máčkové. Zervakis et al. (2014) dokázal, že vztah jednotlivých kmenů hlívy máčkové k určitým druhům rostlin z čeledi *Apiaceae* je geneticky

podmíněn. V pokusu použitý kmen se sice běžně používá pro komerční pěstování této houby v pěstírně, je však možné, že pro kolonizaci pletiva bolševníku velkolepého na území České Republiky tento kmen není vyhovující a je potřeba pokus zopakovat s kmenem jiným – např. evropským vyskytujícím se na našem území. Ačkoliv se hlíva máčková na našem území vyskytuje jen vzácně, plodnice se podařilo nalézt v listopadu 2016 v Kurdějově. Vzhledem k časové náročnosti tohoto pokusu již pokus s českým kmenem není součástí této práce.

7 Závěr

Na základě provedených pokusů jsme došli k následujícím závěrům.

1. Složení substrátu a jeho přísady mají zásadní vliv na schopnost mycelia kolonizovat substrát a na výnosy.
2. Teplotní ošetření substrátu po dobu 24 hodin při teplotě 90 °C je dostačující. Prodloužení doby na 48 hodin nemělo pozitivní vliv na kolonizaci substrátu myceliem, v některých případech došlo dokonce ke zpomalení kolonizace.
3. Piliny listnatého dřeva jsou pro pěstování hlívy máčkové vhodnější než neupravené piliny jehličnatých stromů.
4. Fermentací pilin s 5 % fugátu z jehličnatého dřeva a jejich obohacením o otruby lze připravit substrát, který bude kolonizován myceliem hlívy máčkové stejně rychle jako piliny listnatých stromů.
5. Nejlepších přírůstků mycelia bylo dosaženo na fermentovaných smrkových pilinách obohacených na počátku fermentace 5 % fugátu z bioplynové stanice. V některých případech bylo dosaženo lepších přírůstků než u bukových pilin obohacených otrubami.
6. Fermentované smrkové piliny s 5 % fugátem obohacené o 20 % otrub měly stejné výsledky jako fermentované smrkové piliny s 5 % fugátem bez obohacení otrubami. Obohacení otrubami u této varianty tedy nemá vliv na rychlost prorůstání mycelia a výnosy.
7. Obohacením neupravených smrkových pilin o otruby nedošlo k výraznému zvýšení výnosů. Piliny jehličnatého dřeva je za účelem dosažení optimálních výnosů třeba předem upravit fermentací.

8. Mycelium prorůstalo rychleji na dřevěných pilinách než na slaměných peletách.
9. Testováním dvou různých asijských kmenů *P.e. Eryngii* a *P.e. Bailingu* byl z hlediska rychlosti kolonizace substrátu i z hlediska výnosů lepší kmen *P.e. Bailingu*. U českého kmene Kurdějov byla pozorována větší nevyrovnanost v rychlosti prorůstání u různých nádob, ale během prorůstání a po umístění do pěstírny byl substrát méně náchylný k infekci konkurenčními mikroskopickými houbami. V pěstírně, kde byly nastaveny podmínky běžné pro pěstování asijských kmenů však tento kmen nenasadil plodnice.
10. Osvědčilo se prokypření povrchu substrátu do hloubky 1 cm a následné zakrytí zeminou před umístěním nádob do pěstírny. Tím se zvýšily výnosy, omezil se nepříznivý vliv okolního prostředí a prodloužilo se období sklizně.
11. Z hlediska výnosů byly srovnatelné výsledky při pěstování v experimentálních plastových nádobách opatřených molitanovou zátkou a v plastových sáčcích opatřených mikrofiltrem.
12. Z testovaných variant lze doporučit jako nejvhodnější substráty pro pěstování: bukové piliny obohacené o 20 % otrub nebo smrkové piliny fermentované s přídavkem 5 % fugátu po dobu 6 týdnů obohacené nebo neobohacené o otruby.
13. Ačkoliv v některých případech došlo k nekrotizaci bolševníku velkolepého, nelze zatím potvrdit hypotézu, že mycelium hlívy máčkové může kolonizovat pletivo této invazivní rostliny.

8 Seznam literatury

Akyuz M., Yildiz A., 2008. Evaluation of cellulosic wastes for the cultivation of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel [online]. Academic Journals. 31th March 2008 [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/viewFile/58698/47024>.

Avezaath B., 2016 – Konference hesenských pěstitelů hub, 2.11.2016 Bad Salzuflen, Německo.

Besi M.I., Gargano M.L., Ntougias S., Polemis E., Typas M.A., Venturella G., Zervakis G.I., 2014. A reappraisal of the *Pleurotus eryngii* complex – New species and taxonomic combinations based on the application of a polyphasic approach, and an identification key to *Pleurotus* taxa associated with *Apiaceae* plants [online]. Fungal Biology. 24th June 2014 [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S1878614614001044>.

Braun V., 2016. Konference hesenských pěstitelů hub, 2.11.2016 Bad Salzuflen, Německo

Chaichana C., Promwungkwa A., a Rerkkriangkrai P., Tippayawong N., 2011. Clean Energy from Gasification of Biomass for Sterilization of Mushroom Growing Substrates [online]. International Journal of Energy. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.naun.org/multimedia/NAUN/energy/17-280.pdf>.

Collaud, P. Konference hesenských pěstitelů hub, 29.10.2004. Německo.

Estrada R., del Mar Jimenez-Gasco M., Royse D.J., 2008. Improvement of yield of *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* by substrate supplementation and use of casing overlay [online]. Bioresource Technology 24th February 2009. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S096085240900649X>.

Estrada R., Royse, D.J., 2006. Yield, size and bacterial blotch resistance of *Pleurotus eryngii* grown on cottonseed hulls/oak sawdust supplemented with manganese, copper and whole ground soybean. [online]. Bioresource Technology 10th July 2006. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852406003592>.

De Gioia T., Sisto D., Rana G.L., Figliuolo G., 2004. Genetic structure of the *Pleurotus Eryngii* species-complex. [online]. Mycological Research. 4th February 2008. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095375620861374X>.

Fabbri A., Fanelli C., Punelli F., Porretta D., Reverberi M., Rosa V.D., Urbanelli S., 2007. DNA-fingerprinting (AFLP and RFLP) for genotypic identification in species of the *Pleurotus eryngii* complex [online]. Applied Microbiology and Biotechnology. April 2004. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z https://www.researchgate.net/publication/6535447_DNA-fingerprinting_AFLP_and_RFLP_for_genotypic_identification_in_species_of_the_Pleurotus_eryngii_complex.

Gross U., 2016. Konference hesenských pěstitelů hub, 2.11.2016 Bad Salzuflen, Německo

Hazashi Y., Nakatsuka H., Oda M., Tamura K., 2016. Effects of fresh spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus* on soil micromorphology in Brazil [online]. Geoderma. 12th January 2016. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016706116300192>.

Im C.H., Kim M.K., Ryu J., Shin P., 2015. Development of cultivation media for extending the shelf-life and improving yield of king oyster mushrooms (*Pleurotus eryngii*) [online]. Scientia Horticulturae. 4th July 2015. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423815300819>.

Jablonský, I., Šašek, V. 2006. Jedlé a léčivé houby, pěstování a využití. Brázda. Praha. 168, 189 s. ISBN: 80-209-0341-0.

Kirbag S., Akyuz M., 2008. Evaluation of agricultural wastes for the cultivation of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel.var.*ferulae* Lanzi [online]. Academic Journals. 22th April 2015 [cit. 2016-03-15]. Dostupné z https://www.researchgate.net/publication/242731241_Evaluation_of_agricultural_wastes_for_the_cultivation_of_Pleurotus_eryngii_DC_ex_Fr_Quel_var_ferulae_Lanzi.

Kynast, J. Konference hesenských pěstitelů hub, 29.10.2004. Německo.

Moonmoon M., Uddin M.N., Ahmed S., Shelly N.J., Khan M.A., 2010. Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) on saw dust and rice straw in Bangladesh [online]. Saudi Journal of Biological Sciences. 16th May května 2010 [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X10000550>.

Ro H.S., Kim S.S., Ryu J.S., Jeon Ch.O., Lee T.S., Lee H.S., 2007. Comparative studies on the diversity of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*: ITS sequence analysis, RAPD

fingerprinting, and physiological characteristics [online]. Mycological Research. 21th February 2007 [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0953756207000822>.

Rocca, S. la.; Venturella, G.; Zervakis, G. 2000. *Pleurotus eryngii* var. *elaeoselini* var. nov. from Sicily. Journal Mycotaxon. Journal Mycotaxon. 2000. Vol. 76 pp. 419-427, ISSN 0093-4666.

Romanens, P. Konference hesenských pěstitelů hub, 29.10.2004. Německo.

Romanens, P. Konference hesenských pěstitelů hub, 5.11.2008. Nevele, Belgie.

Zharare G.E., Kabanda S.M., Poku J.Z., 2010. Effects of temperature and hydrogen peroxide on mycelial growth of eight *Pleurotus* strains [online]. Scientia Horticulturae. 21th March 2010 [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com.infozdroje.czu.cz/science/article/pii/S0304423810001020>.

Elektronické zdroje

Šavelka, V., [online]. Celoroční seriál o houbách. [cit. 20016-10-10]. Dostupné z <http://www.hлива-hлива.cz/celoročni-serial-o-pestovani-hub/>

Kolektiv autorů BÚ AV ČR v.v.i., LÚ VUT Brno, Gisat s.r.o. [online]. Dostupné z <http://www.invaznirostliny.cz/druhy/bolsevník-velkolepy>

9 Přílohy

Tabulky

Pokus 1								
Varianta	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)
	Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba	Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba
F3	40,25000	0,793200	39,45680	41,04320	75,06250	0,887265	74,17523	75,94977
F6	42,62500	0,948134	41,67687	43,57313	83,56250	1,248228	82,31427	84,81073
F9	42,12500	1,150634	40,97437	43,27563	78,25000	1,282900	76,96710	79,53290
B3	36,25000	1,038829	35,21117	37,28883	67,81250	1,544395	66,26810	69,35690
B6	39,50000	0,724569	38,77543	40,22457	71,87500	0,850857	71,02414	72,72586
B9	37,87500	0,735272	37,13973	38,61027	71,87500	0,865424	71,00958	72,74042
S	35,68750	0,717163	34,97034	36,40466	66,68750	0,794349	65,89315	67,48185
B	42,66667	1,310409	41,35626	43,97708	82,08333	1,305341	80,77799	83,38867

Tabulka č. 1. Měření prorůstání mycelia – průměry a směrodatné odchytky jednotlivých variant pokusu 1, výstup z programu Statistica 12. Data pro graf č. 1.

Pokus 2								
Varianta	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)
	Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba	Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba
F6	37,25000	2,381101	34,86890	39,63110	100,3750	5,535397	94,8396	105,9104
F6 + fugát	39,56250	1,186622	38,37588	40,74912	116,2500	1,163687	115,0863	117,4137
F6 + otruby	37,12500	1,563393	35,56161	38,68839	112,8750	1,826760	111,0482	114,7018
S	15,00000	2,878492	12,12151	17,87849	68,8750	2,073967	66,8010	70,9490
B	31,25000	1,849228	29,40077	33,09923	94,0000	1,558387	92,4416	95,5584
B + otruby	31,37500	2,008353	29,36665	33,38335	104,7500	1,206382	103,5436	105,9564

Tabulka č. 2. Měření prorůstání mycelia – průměry a směrodatné odchytky jednotlivých variant pokusu 2, výstup z programu Statistica 12. Data pro graf č. 2.

Pokus 3 - kmen <i>P.e. Eryngii</i>									
Substrát	Teplotní ošetření	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)
		Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba	Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba
Piliny	24H	36,23529	2,055354	34,17994	38,29065	95,05882	1,420622	93,63820	96,4794
Piliny	48H	48,52941	3,012374	45,51704	51,54179	99,58824	4,381662	95,20657	103,9699
Pelety	24H	32,23810	1,432455	30,80564	33,67055	70,14286	1,349225	68,79363	71,4921
Pelety	48H	19,09524	1,688765	17,40647	20,78400	56,76190	1,053124	55,70878	57,8150

Tabulka č. 3. Měření prorůstání mycelia u kmene *P.e. Eryngii* – porovnání rychlosti prorůstání na dřevěných pilinách a slaměných peletách při dvou teplotních ošetřeních - 24 a 48 hodin, výstup z programu Statistica 12. Data pro graf č. 3, 5 a 6 v pokusu 3.

Pokus 3 - kmen <i>P.e. Bailingu</i>									
Substrát	Teplotní ošetření	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)
		Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba	Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba
Piliny	24H	44,19048	1,860132	42,33034	46,05061	98,76190	1,570418	97,19149	100,3323
Piliny	48H	56,42857	5,349932	51,07864	61,77850	88,76190	3,841444	84,92046	92,6033
Pelety	24H	32,15385	1,738870	30,41498	33,89272	65,84615	1,921025	63,92513	67,7672
Pelety	48H	33,31034	1,071465	32,23888	34,38181	68,82759	1,142624	67,68496	69,9702

Tabulka č. 4. Měření prorůstání mycelia u kmene *P.e. Bailingu* – porovnání rychlosti prorůstání na dřevěných pilinách a slaměných peletách při dvou teplotních ošetřeních - 24 a 48 hodin, výstup z programu Statistica 12. Data pro graf č. 4, 5 a 6 v pokusu 3.

Pokus 4								
Varianta	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 1. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)	Přírůstky mycelia 2. měření (mm)
	Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba	Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba
S + O	40,55000	0,817242	39,73276	41,36724	86,1250	1,299007	84,8260	87,4240
B + O	52,60000	0,793241	51,80676	53,39324	116,9250	0,936022	115,9890	117,8610
F6 + O + F	52,50000	0,697063	51,80294	53,19706	107,0500	0,943908	106,1061	107,9939
F6 + O	51,67500	0,699256	50,97574	52,37426	108,7750	2,190448	106,5846	110,9654
KUR B + O	50,46875	1,038556	49,43019	51,50731	86,9375	1,378067	85,5594	88,3156

Tabulka č. 5. Měření rychlosti prorůstání mycelia – porovnání průměrů jednotlivých variant pokusu 4. Data pro graf č. 8.

Pokus 5				
Varianta	Výnos (g/1000 g substrátu)	Výnos (g/1000 g substrátu)	Výnos (g/1000 g substrátu)	Výnos (g/1000 g substrátu)
	Průměr	Sm. Chyba	- Sm. Chyba	+ Sm. Chyba
B1 - K	94,4500	12,31088	82,13912	106,7609
B2 - S	107,9250	10,59305	97,33195	118,5181

Tabulka č. 6. Měření výnosů plodnic vypěstovaných v experimentálních nádobách a sáčcích. Data pro graf č. 10 v pokusu 5.

Obrázky



Obr. č. 1, 2, 3 a 4. Plodnice hlívy máčkové.



Obr. č. 5. Experimentální nádoby zakryté zeminou.



Obr. č. 6. Deformované plodnice, které v nevhodných podmínkách vyrostly na spodu experimentální nádoby. Po vyjmutí substrátu z nádoby plodnice dorostly, některé však byly deformované.

Obr. č. 7. Experimentální nádoba zakrytá jinou nádobou za účelem omezení proudění vzduchu.



Obr. č. 8. Bolševník velkolepý (*Heracleum mantegazzianum*). Mníšek pod Brdy.



Obr. č. 9. Bolševník velkolepý (*Heracleum mantegazzianum*). Zdroj: www.invaznirosliny.cz.

Seznam příloh

Tabulky

1. **Tabulka č. 1.:** Měření prorůstání mycelia – průměry a směrodatné odchylky jednotlivých variant pokusu 1, výstup z programu Statistica 12. Data pro graf č. 1.
2. **Tabulka č. 2.** Měření prorůstání mycelia – průměry a směrodatné odchylky jednotlivých variant pokusu 2, výstup z programu Statistica 12. Data pro graf č. 2.
3. **Tabulka č. 3.** Měření prorůstání mycelia u kmene *P.e. Eryngii* – porovnání rychlosti prorůstání na dřevěných pilinách a slaměných peletách při dvou teplotních ošetřeních - 24 a 48 hodin, výstup z programu Statistica 12. Data pro graf č. 3, 5 a 6 v pokusu 3.
4. **Tabulka č. 4.** Měření prorůstání mycelia u kmene *P.e. Bailingu* – porovnání rychlosti prorůstání na dřevěných pilinách a slaměných peletách při dvou teplotních ošetřeních - 24 a 48 hodin, výstup z programu Statistica 12. Data pro graf č. 4, 5 a 6 v pokusu 3.
5. **Tabulka č. 5.** Měření rychlosti prorůstání mycelia – porovnání průměrů jednotlivých variant pokusu 4. Data pro graf č. 8.
6. **Tabulka č. 6.** Měření výnosů plodnic vypěstovaných v experimentálních nádobách a sáčcích. Data pro graf č. 10 v pokusu 5.

Obrázky

1. **Obr. č. 1.** Plodnice hlívy máčkové.
2. **Obr. č. 2.** Plodnice hlívy máčkové.
3. **Obr. č. 3.** Plodnice hlívy máčkové.
4. **Obr. č. 4.** Plodnice hlívy máčkové.
5. **Obr. č. 5.** Experimentální nádoby zakryté zeminou.
6. **Obr. č. 6.** Deformované plodnice, které v nevhodných podmínkách vyrostly na spodu experimentální nádoby. Po vyjmutí substrátu z nádoby plodnice dorostly, některé však byly deformované.
7. **Obr. č. 7.** Experimentální nádoba zakrytá jinou nádobou za účelem omezení proudění vzduchu.
8. **Obr. č. 8.** Bolševník velkolepý (*Heracleum mantegazzianum*). Mníšek pod Brdy.
9. **Obr. č. 9.** Bolševník velkolepý (*Heracleum mantegazzianum*). Zdroj: www.invaznirostliny.cz.