

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zahradnictví**



**Porovnání vnímavosti různých kmenů houby *Pleurotus ostreatus* vůči houbě *Trichoderma pleuroti***

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Lenka Bortliková**

**Obor studia: Rozvoj venkovského prostoru**

**Vedoucí práce: Ing. Ivan Jablonský, CSc.**

© 2017 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Porovnání vnímavosti různých druhů kmenů houby *Pleurotus ostreatus* vůči houbě *Trichoderma pleuroti*" jsem vypracovala 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 neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13.4.2017

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu práce Ing. Ivanu Jablonskému, CSc. za odborné vedení a RNDr. Davidovi Novotnému, PhD. za vedení a připomínky při pokusné části diplomové práce. Dále své rodině za trpělivost, podporu a pomoc při studiu.

# Porovnání vnímavosti různých kmenů houby *Pleurotus ostreatus* vůči houbě *Trichoderma pleuroti*

Souhrn

Hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*) je druh houby, který můžeme nalézt ve volné přírodě a pěstuje se i komerčně v pěstírnách, v provozech na různých typech substrátu. Její obliba v posledních letech stoupá, zároveň s poznatky o jejích léčivých vlastnostech. Používá se v lékařství v humánní i veterinární medicíně a hlavně jako potravina v teplé kuchyni.

V posledních letech činí pěstitelům hub u nás i v zahraničí velké potíže velmi často kalamitní výskyt zelené plísně rodu *Trichoderma*. U hlívy ústříčné se jedná nejčastěji o *Trichoderma pleuroti*. Její agresivní růst a velmi obtížná ochrana způsobuje pěstitelům značné ztráty na výnosech, a to je důvod, proč začala být v posledních letech podrobněji studována.

Cílem práce bylo ověřit vnímavost komerčních i divokých kmenů hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) vůči vláknité houbě *Trichoderma pleuroti* a to na různých typech substrátu a při jejich různém ošetření. Jelikož obě kultury neprojevovaly v pokusech dostatečný růst, následné pokusy byly zaměřeny na vlhkost substrátu.

Hlíva ústříčná měla měřitelné přírůstky, avšak *Trichoderma pleuroti* rostla s přírůstky minimálními. Z růstu obou kultur lze vyvodit pouze jejich vzájemný vztah. Pokud je v substrátu aktivní růst hlívy ústříčné, je i aktivní v růstu *Trichoderma pleuroti*.

Hodnocením růstu hlívy ústříčné a *Trichoderma pleuroti* při vlhkostech substrátu 65 %, 67 %, 69 %, 71 %, 73% a 75 % bylo zjištěno, že hlíva ústříčná měla rovnoměrný lineární průběh růstu. Z hlediska naměřených hodnot byla pro růst mycelia hlívy ústříčné nejlepší vlhkost substrátu 73 %. *Trichoderma pleuroti* z hlediska prorůstání substrátu měla nejlepší růst při vlhkosti 67 – 69 %, naopak nejhorší růst byl při vlhkosti substrátu 73 %.

**Klíčová slova:** *Pleurotus ostreatus*, *Trichoderma pleuroti*, vlhkost, substrát

# Comparison of susceptibility to the fungus *Trichoderma pleuroti* in various *Pleurotus ostreatus* strains

## Summary

The oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) is a mushroom species found in nature as well as grown in commercial farms on various substrate types. Its popularity, along with the amount of knowledge about its healing properties, has been growing in recent years. It is used in both human and veterinary medicine, but mainly as a cooking ingredient.

Lately the farmers in the Czech Republic and abroad have been suffering disastrous infections of their crops by the green mould of the genus *Trichoderma*. The oyster mushroom is most often affected by *Trichoderma pleuroti*. It grows aggressively and the defence against it is very difficult. This is greatly decreasing the farmers' income, which is why the mould has been closely studied recently.

The main goal of this thesis was to determine the susceptibility of wild and commercially grown strains of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) to the fungus *Trichoderma pleuroti* on various types of substrate with various types of protection. As both cultures did not grow significantly during research, the following research was aimed at the substrate humidity.

The oyster mushroom's growth was measurable, however *Trichoderma pleuroti* was growing only minimally. The growth of both cultures implies only their mutual relationship. If the substrate contains an active growth of the oyster mushroom, it contains a growth of *Trichoderma pleuroti* as well.

It was determined by evaluating the growth of the oyster mushroom and *Trichoderma pleuroti* in substrates with humidity levels of 67 %, 69 %, 71 %, 73 % and 75 % that the oyster mushroom had a linear growth pattern. Measured values showed that mycelium grew best in a substrate with humidity 73 %. *Trichoderma pleuroti* grew best at substrate humidity of 67 – 69 %. At 73 % the growth was the worst.

**Keywords:** *Pleurotus ostreatus*, *Trichoderma pleuroti*, humidity, substrate

## Obsah

1. Úvod .....	1
2. Cíl práce .....	2
3. Literární rešerše .....	3
3.1. Houby - Fungi.....	3
3.1.1. Charakteristika hub .....	3
3.1.2 Historie hub a člověka .....	3
3.1.3 Výživová hodnota a látkové složení hub .....	4
3.2. Rod <i>Pleurotus</i> (Fr.) P.Kumm. – hlíva.....	5
3.2.1. Druhy hlív, všeobecný popis .....	6
3.2.2. Chráněné druhy v České republice.....	7
3.2.3. Pěstované druhy hlív .....	9
3.2.4. Pěstování hlívy ústříčné.....	9
3.2.5. Požadavky hlívy na podmínky prostředí .....	11
3.2.6. Intenzivní pěstování.....	13
3.3. Rod <i>Trichoderma</i> sp.....	19
3.3.1. Popis rodu <i>Trichoderma</i> sp. a rodu <i>Hypocrea</i> sp.....	19
3.3.2. Využití rodu <i>Trichoderma</i> .....	20
3.3.3. Výskyt a identifikace zelené plísně rodu <i>Trichoderma</i> .....	21
3.3.4. <i>Trichoderma pleuroticola</i> S. H. Yu a M. S. Park .....	23
3.3.5. <i>Trichoderma pleuroti</i> S. H. Yu a M. S. Park. ....	23
3.3.6. <i>Trichoderma pleuroti</i> na substrátu.....	24
3.3.7. Strategie <i>Trichoderma pleuroti</i> .....	25
4. Materiál a metody .....	26
4.1. Materiál.....	26
4.1.1. Agarové živné medium.....	26
4.1.2. Pšeničná sláma .....	26
4.1.3. Pšeničné pelety .....	26
4.1.4. Polyetylenové rukávy .....	26
4.1.5. Zavařovací sklenice .....	27
4.1.6. Laboratorní pomůcky .....	27
4.1.7. Použité kmeny hub .....	27
4.2. Metody .....	29
4.2.1. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti <i>Trichoderma pleuroti</i> ...	29
4.2.2. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti <i>Trichoderma pleuroti</i> ...	30
4.2.3. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti <i>Trichoderma pleuroti</i> ...	30
4.2.4. Hodnocení vlhkosti substrátu v PE - HD rukávu při ošetření sterilizací	31
Má sterilizace zásadní vliv na zvýšení vlhkosti substrátu v PE - HD rukávu?	31
4.2.5. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti <i>Trichoderma pleuroti</i> ...	32
Hodnocení vlhkosti substrátu v PE - HD rukávech .....	32

4.2.6. Vliv vlhkosti substrátu na růst hlívy ústříčné a <i>Trichoderma pleuroti</i> ...	33
Kontrola vlhkosti substrátu .....	33
5. Výsledky .....	36
5.1. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti <i>Trichoderma pleuroti</i> .....	36
5.2. Hodnocení vlhkosti substrátu v PE-HD rukávu při ošetření sterilizací .....	37
5.3. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti <i>Trichoderma pleuroti</i> .....	38
Hodnocení vlhkosti substrátu v PE – HD rukávech .....	38
5.4. Vliv vlhkosti substrátu na růst hlívy ústříčné a <i>Trichoderma pleuroti</i> .....	41
Kontrola vlhkosti substrátu .....	41
6. Diskuze .....	45
7. Závěr .....	47
8. Literární zdroje .....	48
9. Přílohy .....	56

## 1. Úvod

Hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*) je druh houby, který můžeme nalézt ve volné přírodě v našich lesích v jarních a podzimních měsících. Pěstuje se i komerčně v pěstírnách, v provozech na různých typech substrátu. Její obliba v posledních letech stoupá, zároveň s poznatky o jejích léčivých vlastnostech. Používá se v lékařství v humánní i veterinární medicíně a hlavně jako potravina v teplé kuchyni. V posledních letech činí pěstitelům hub u nás i v zahraničí velké potíže velmi často kalamitní výskyt zelené plísně rodu *Trichoderma*.

U hlívy ústříčné se jedná nejčastěji o druh *Trichoderma pleuroti*. Její agresivní růst a velmi obtížná ochrana způsobuje pěstitelům značné ztráty na výnosech, a to je důvod, proč začala být v posledních letech podrobněji studována.



## 2. Cíl práce

Cílem práce je ověřit vnímavost komerčních i divokých kmenů hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) vůči vláknité houbě *Trichoderma pleuroti* a to na různých typech substrátu při jejich různém ošetření.

### 3. Literární rešerše

#### 3.1. Houby - Fungi

Říše hub je nejpočetnější, nejvýznamnější a rovněž nejznámější skupina eukaryotních heterotrofních organismů. Má specifické charakteristiky, které odlišují tuto skupinu od ostatních organismů (Novák a Skalický, 2008).

##### 3.1.1. Charakteristika hub

Houby jsou heterotrofní organismy, které získávají organické látky ze svého okolí. Do něho vylučují své enzymy, jež štěpí složité organické látky na menší jednotky, které pak vstřebávají (absorbují) a používají je pro výstavbu svých buněk (Holec et al., 2012).

Z hlediska výživy jsou houby většinou saprotofové, získávají živiny z organických zbytků, nebo parazité, napadající živé organismy, kterým odjímají asimiláty a další látky. Tzv. saproparazité jsou navíc schopni, po usmrcení hostitele, změnit svůj způsob výživy a přežít jako saprotofové na usmrcených buňkách. Houby však mohou získávat organické látky i symbioticky; zde především jmenujme mykorhizu a lichenismus (Kalina a Váňa, 2005).

Jejich tělo nazývané stélka má jednoduchou stavbu; je složeno z vláken (hyf), která jsou rozvětvená a propletená a tvoří podhoubí (mycelium). Mycelium někdy tvoří kulovité kompaktní útvary nazývané sklerocia nebo spletená vlákna (rhizomorfy), ze kterých jsou tvořeny plodnice nebo jiné kompaktní struktury (Jablonský a Šašek, 2006).

Nepohlavní rozmnožování u hub je velmi významné a u řady druhů představuje dominantní způsob rozmnožování. Cyklus vegetativního rozmnožování může proběhnout několikrát během vegetační sezony a jeho výsledkem je vznik velkého množství jedinců, což je důležité zvláště u parazitických druhů (Kalina a Váňa, 2005).

Pohlavní rozmnožování u hub stejně jako u ostatních organismů je spojeno se změnou ploidie; vždy musí dojít k plasmogamii, karyogamii a meioze (Kalina a Váňa, 2005)

##### 3.1.2 Historie hub a člověka

Houby poutaly pozornost člověka odjakživa. Pro prehistorického člověka – lovce a sběrače – byly patrně velmi důležitou, i když sezónní potravou (Klán, 1999).

O vědomém používání hub se zmiňují i egyptské hieroglyfy. Četné zprávy o houbách jako potravě pocházejí z období starého Řecka a Říma. Ve středověku zaujímali lidé k

houbám spíše negativní postoj, protože se nepodobají rostlinám ani živočichům (Lepšová, 2001).

Přírodovědci a lékaři objasnili mnohé otázky ze života hub již v 17. a 18. století, ale rozvoj mykologie jako vědního oboru začal koncem 18. století a trval celé 19. století. Většinu druhů hub pojmenovali tehdejší mykologové (Klán, 2005). Třídění hub bylo založeno především na morfologii a způsobu rozmnožování (Jablonský a Šašek, 2006).

Nejmodernější třídění organismů je založené na zkoumání jejich buněk v elektronovém mikroskopu, biochemických studiích a hlavně na údajích získaných metodami molekulární biologie (Holec a kol., 2012). Taxonomie organismů, včetně hub se neustále vyvíjí.

### 3.1.3 Výživová hodnota a látkové složení hub

Výživová hodnota založená na výpočtu z obsahu esenciálních mastných aminokyselin ukazuje, že houby jsou výživnější než zelenina a rovnají se luštěninám. Energetická hodnota hub je poměrně nízká pro nepatrný obsah tuků a je srovnatelná se zeleninou, 100 g čerstvých plodnic poskytne 30 - 140 kJ. Řadíme je proto mezi dietetické potraviny (Klán, 1999).

Čerstvé plodnice hub obsahují průměrně mezi 85 - 90 % vody, např. u hlívy ústříčné je to 90,8 % (Ginterová, 1992).

Obsah bílkovin v sušině plodnic je 8 - 36 %. Z tohoto množství není lidský organismus schopen využít čtvrtinu, neboť přítomnost chitinu snižuje vstřebávání výživně cenných látek (Klán, 1999).

Množství tuků v sušině hub je 1,5 - 5 %. Z mastných kyselin je nejvíce zastoupená linolová (asi 50 %), dále olejová (33%), palmitová a stearová (Klán, 1999).

V houbové sušině je 20 - 30 % sacharidů. Jsou to pentozy, metylpentozy, hexozy, cukernaté alkoholy, uronové kyseliny, disacharidy (Klán, 1999).

Polysacharidy, které se vyskytují v houbách, jsou nejčastěji složeny z glukozových jednotek, takové polysacharidy se nazývají glukany. Mechanismus glukanu spočívá v tom, že podporují všechny systémy organismu - nervový, imunitní i hormonální (Jablonský a Šašek, 2006).

Houby obsahují některé vitamíny v poměrně vysokých koncentracích a jsou tudíž jejich dobrým zdrojem. Jsou to hlavně vitamíny skupiny B, thiamin, riboflavin, biotin a niacin. V některých druzích se objevuje i poměrně vysoké množství vitamínu C (Ginterová, 1992).

### 3.2. Rod *Pleurotus* (Fr.) P.Kumm. – hlíva

Taxonomie

říše: Fungi

vývojová větev: Dikarya

oddělení: Bazidiomycota

pododdělení: Agaricomycotina

třída: Agaricomycetes

řád: Agaricales

čeleď: Pleurotaceae

rod: *Pleurotus*

(Holec et al., 2012)

Taxony rodu *Pleurotus* jsou doma skoro ve všech ekotopech. Pravlastí taxonů *Pleurotus* by mohly být i tropy. Některé se nyní jeví být domácími ve střední Evropě, ale uchovávají si své původní vlastnosti (Hrouda, 1999). V Evropě se vykytuje cca 10 druhů (Holec, 2012). Od podzimu do jara nalézáme plodnice hlív v lesích na kmenech a pařezech. Plodnice vyrůstají střechovitě nad sebou v trsech nebo jednotlivě (Jablonský a Šašek, 2006).

Kloboukaté masité lupenité houby s nálevkovitými, jazykovitými až lasturovitými plodnicemi, excentrickým nebo bočním (vzácně i středovým) třeněm, popř. třeně chybí a plodnice jsou bokem přirostlé. Velum chybí nebo je vyvinuté. Výtrusný prach je bílý, krémový nebo se slabě šedofialovým nádechem (Antonín, 2006).

Hlívy jsou houby rostoucí na dřevěch, padlých i živých kmenech či pařezech stromů listnatých nebo jehličnatých, řidčeji na odumřelých stéblech trav, stoncích rostlin nebo detritu lesním, jen vzácně na zemi. Po stránce fytopatologické mají značný význam, neboť mnohé působí intenzivní hnilobou dřeva stromů živých i poražených (Pilát, 1935).

Bylo prokázáno, že hlíva naočkovaná na zdravé stromy se dále nešíří. Kalamitní výskyt byl pozorován pouze na stromech silně oslabených, např. lesním požárem. Mycelium působí bělavé trouchnivění dřeva (Jablonský a Šašek, 2006).

Hlívy se vyznačují dravým způsobem života - hyfy mohou chytat drobné půdní živočichy (Antonín, 2006). Živočišné bílkoviny z půdních živočichů, nejčastěji z hlístů jsou pro hlívy nezbytným zdrojem dusíku, kterého je ve dřevě velmi málo. Podhoubí hlívy

vylučuje kapky jedovaté látky, která po dotyku hád'átka znehybní, potom houbové vlákno pronikne do nehybného hád'átka, proroste ho a stráví (Lepšová, 2001).

### 3.2.1. Druhy hlív, všeobecný popis

#### *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P.Kumm. - hlíva ústříčná

Plodnice v trsech či střečovité nad sebou, s kloboukem a po straním třeněm nebo téměř bez třeně. Klobouk 50 - 200 mm, škeblovitý, ledvinovitý vějířovitý až lopatkovitý, v mládí s podvinutým okrajem, bez vela, hladký, břidlicovitě šedý až šedohnědý, někdy s modrým až světle fialovým odstínem nebo rezavě hnědý, ve stáří blednoucí do světle béžové. Lupeny sbíhavé, bílé až světle šedé, dole na třeni místy propojené. Třeň 10 - 20(- 40) x 10 - 30 mm, většinou kratičkový, někdy rozvětvený do několika klobouků, tuhý, bělavý, dole bíle plstnatý. Dužnina pevná, bílá až našedlá, stářím nežloutnoucí. Chuť mírná, vůně příjemná, po choroších. Výtrusy 7 - 12 x 3 - 4,5  $\mu\text{m}$ , elipsovité až válcovité. Plodnice vytváří od září do května. Výskyt hojně, na odumírajících mrtvých kmenech, větvích a pahýlech listnatých stromů, zejména na buku, vrbě a topolech, vzácně i na jehličnanech, v chladných obdobích roku, od nížin do hor. Pěstuje se i v uměle vytvořených podmínkách. (Holec a kol., 2012).

#### *Pleurotus cornucopiae* (paulet) Roland – hlíva miskovitá

Má velmi dlouze sbíhavé lupeny, na třeni pospojované a vytvářející žilnatou síťku. Plodnice vytváří od září do května. Vzácně roste na listnatých stromech – hlavně na jilmech a topolech v teplých oblastech, zejména v lužních lesích a parcích (Holec a kol., 2012).

#### *Pleurotus dryinus* (Pers.) P. Kumm. – hlíva dubová

Plodnice jednotlivě či střečovité nad sebou, s kloboukem a výstředným až téměř postranním třeněm. Klobouk 40 - 150 mm, vyklenutý až plochý, shora ledvinovitý až vějířovitý, bělavý, našedlý až světle béžově hnědavý, plstnatě šupinatý, v mládí spojený se třeněm blanitým velem, zanechávajícím na okraji klobouku útržky. Lupeny husté, široce připojené až sbíhavé, bílé až krémové, ve stáří šedivě až žlutlé. Třeň 30 - 70 x 10 - 30 mm, válcovitý tuhý, se zbytkem vela v podobě pásku, plstnatě šupinaté, v barvě klobouku. Dužnina je velmi tuhá, žloutnoucí. Výtrusy 9 - 16 x 3 - 5  $\mu\text{m}$ , elipsovité - válcovité. Vzácně tvoří plodnice už v dubnu, často od září do listopadu. Roste roztroušeně na živých a čerstvě odumřelých kmenech listnatých a jehličnatých stromů, zejména smrku, dubu a jabloni, většinou vyrůstá z trhlín a postranních míst (Holec a kol., 2012)

*Pleurotus calyptratus* (Lindblad) Sacc. – hlíva čepičkatá

V mládí má velum, ale škeblovitě, bokem přirostlé plodnice bez třeně a roste vzácně na topolech v teplejších oblastech (Holec a kol., 2012).

*Pleurotus pulmonaris* (Fr.) Quél. – hlíva plicní

Plodnice v trsech střechovitě nad sebou, s kloboukem a postranním třeněm nebo téměř bez třeně. Klobouk 40 - 150 mm, škeblovitý, vějířovitý až lopatkovitý, v mládí s podvinutým okrajem, bez vela, hladký, bělavý, slonovinový až světle šedohnědý, na okraji pozvolna žloutnoucí. Lupeny sbíhavé, bílé až krémové, zasycháním žloutnoucí. Třeň o rozměrech maximálně 20 x 5 - 15 mm, tuhý, bělavý, jemně bíle plstnatý. Dužnina měkká, bílá, zasycháním pozvolna žloutnoucí. Chuť mírná, vůně příjemná houbová. Výtrusy 8 - 12 x 3 - 4,5  $\mu\text{m}$ , elipsovité – válcovité. Plodnice vytváří od května do října. Hojně na odumírajících a mrtvých kmenech a větvích listnatých stromů, zejména buku a topolu osiky, v teplejších obdobích roku, od nížin do hor. Uměle se pěstuje (Holec a kol., 2012).

*Pleurotus eryngii* (DC.) Quél. - hlíva máčková

Plodnice jednotlivé i ve skupinách, s kloboukem a středovým až mírně výstředným třeněm. Klobouk 40 – 200 mm, vyklenutý, pak prohloubený až nálevkovitý, s podvinutým okrajem, jemně vrostlý vláknitý, uprostřed až šupinatý, žlutohnědý, načervenalé až čokoládově hnědý, pak blednoucí do světle okrovohněda. Lupeny sbíhavé, šedobílé, pak narůžovělé krémové až světle okrové. Třeň 25 - 70 x 8 - 25 mm, válcovitý, dole většinou zašpičatělý, bělavý až světle okrový. Chuť a vůně příjemné. Výtrusy 10 - 13 x 4,5 - 5,5  $\mu\text{m}$ , elipsovité až válcovité. Plodnice vytváří od srpna do listopadu. Vzácně, jako parazit až saprotrof na kořenech a spodních stoncích miříkovitých a hvězdicovitých rostlin, zejména máčky ladní, na výslunných stepních stanovištích (Holec a kol., 2012).

### 3.2.2. Chráněné druhy v České republice

*Pleurotus calyptratus* (Lindblad) Sacc. – hlíva čepičkatá

Je zařazená v Červeném seznamu ohrožených hub v České republice jako ohrožený druh. Vzácný druh s malým počtem lokalit (6 - 20), které jsou ohroženy už v důsledku samotného faktu nízkého počtu lokalit a popř. i přímým ohrožením činností člověka na některých lokalitách. Úplné vymizení z mykoflóry ČR však zatím u tohoto druhu nehrozí (Holec a kol., 2006).

V podmínkách ČR se jedná o teplomilný druh s výskytem donedávna omezeným na oblasti Dyjsko - svrateckého a Dolnomoravského úvalu a Podyjí. V 90. letech 20. století však byla nalezena také ve východních Čechách - Bělečko: rezervace Buky u Vysokého Chvojna; Račice nad Trotinou: les Hoříčka, 1997. Nejnověji byla nalezena na Halbě v Ostravě (2006) (Holec a kol., 2006).

*Pleurotus cornucopiae* (Paulet) Roland – hlíva miskovitá

Zařazená v Červeném seznamu ohrožených hub v České republice jako zranitelný druh. Druh vykazující sice slabší, ale prokazatelný ústup na celém území ČR (na 50 - 80 % původního počtu lokalit) nebo na jeho velké části. Často se jedná o druhy vázané na stanoviště, která v současné krajině zanikají a druhy postižené imisemi, eutrofizací dusíkem a dalšími vlivy spadajícími do globálního poškozování přírody (Holec a kol., 2006).

V podmínkách ČR se jedná o teplomilný druh. V Čechách jsou známy jen izolované lokality Polabí - zámecký park v Hoříně u Mělníka (1996 a 1999) a kopec Svatého Jana v Novém Hradci Králové (1993). Častěji je výskyt v lužních lesích nejjižnější částí Moravy (Holec a kol., 2006).

*Pleurotus eryngii* (DC.) Quél. - hlíva máčková

Je zařazená v Červeném seznamu ohrožených hub v České republice jako kriticky ohrožený druh. Vzácné a zároveň ohrožené druhy, svým výskytem omezené na několik málo lokalit (1 - 5), vázaných na stanoviště a substráty ohrožené člověkem nebo mizející z přirozených příčin. Zařazují se zde i druhy u nichž došlo k velmi výraznému snížení počtu známých lokalit, takže jsou v poslední době vzácné. Trend ústupu je silný, a pokud negativní faktory nepřestanou působit, bude dále pokračovat a může vést až k vymizení druhu z naší mykoflóry (Holec a kol., 2006).

Teplomilný druh mající v ČR zřejmě severní okraj areálu. Roste výlučně na stepních stanovištích s výskytem hostitelských rostlin (v ČR téměř výhradně máčky ladní). Byla sbírána v sedmdesátých a osmdesátých letech 20. století v severních Čechách (okolí Brňan u Mostu, naposledy v roce 1989), po třicetileté pauze byla nalezena na jižní Moravě (Kamenný vrch u Kurdějova, 2002; Podrážky v Bílých Karpatech (2004)).(Holec a kol., 2006).

### 3.2.3. Pěstované druhy hlív

Pro pěstování přichází v úvahu široké spektrum druhů. Pěstují se chladnomilné, teplomilné i tropické druhy. Nejvíce pěstovaným druhem je chladnomilná hlíva ústříčná, její teplomilný kultivar Florida a jejich vzájemní kříženci (Jablonský a Šašek, 2006).

Hlíva ústříčná cv. „Florida“ byla poprvé studována v roce 1959 na Floridě v USA. Teplotní optimum pro její fruktifikaci je 20 - 25°C. Plodnice vyrostlé při 5°C mají klobouk světle hnědý, při teplotě 25°C téměř bílý (Jablonský a Šašek, 2006).

Dále se pěstuje hlíva miskovitá, která má klobouk o průměru okolo 10 cm, krémového či citrónově žlutého zbarvení. Žlutou formu označují někteří výrobci sadby jako *Pleurotus citrinopileatus*. Lupeny má rovněž sbíhavé na treň, bílé, později krémové. Dužnina je bílá, pevná, moučnaté chuti, u některých kmenů příliš aromatická. Lze pěstovat hlívu máčkovou, která na rozdíl od ostatních druhů hlív neroste v přírodě na dřevě stromů, ale na kořenechz čeledi mrkvovitých (Jablonský a Šašek, 2006). V České republice je pouze jedna pěstírna

Z teplomilných druhů se pěstuje hlíva plicní, která se také nazývá hlíva žlutnoucí (Jablonský a Šašek, 2006).

Hlíva růžová (*Pleurotus salmoneostramineus*) má rychlou inkubaci a dekorativní klobouky. Při teplotě nad 19°C utváří shluky růžových klobouků o různých rozměrech (v průměru od 7 do 12 cm). Při nižších teplotách dochází k rozdílům v barvě a tvaru. Tyto houby nemají žádnou konkrétní chuť a pěstují se primárně pro svou dekorativní funkci. Mateřské kultury a podhoubí umírají při teplotě pod 8 – 10°C.

([http://www.mycelia.be/en/strain - list/m - 2708 - pleurotus - salmoneostramineus](http://www.mycelia.be/en/strain-list/m-2708-pleurotus-salmoneostramineus))

Vyhláškou č. 291/2010 Sb.

jsou stanoveny požadavky na označování, jakost a uvádění hub do oběhu v České republice. Jsou zde uvedeny druhy volně rostoucích a pěstovaných jedlých hub určených k přímému prodeji, nebo k dalšímu průmyslovému zpracování pro potravinářské účely. Z hlív lze prodávat hlívu ústříčnou (*Pleurotus ostreatus*) a hlívu plicní (*Pleurotus pulmonarius*). Pěstovat lze hlívu ústříčnou (*Pleurotus ostreatus*), hlívu miskovitou (*Pleurotus cornucopiae*), hlívu plicní (*Pleurotus pulmonaris*), hlívu máčkovou (*Pleurotus eryngii*), hlívu citrónovou (*Pleurotus citrinopileatus*) a hlívu růžovou (*Pleurotus salmoneostramineus*).

### 3.2.4. Pěstování hlívy ústříčné

Postupy pěstování hlívy ústříčné jako dřevokazné houby se rozpracovávaly na počátku 60. let minulého století v zemi tradičního pěstování v Japonsku. Odtud byly převzaty postupy



pěstování na dřevěných špalcích a produkční pěstování hlívy se objevilo i v Evropě, tentokrát v Maďarsku. V krátké návaznosti v letech 1969 až 1971 začaly první zkoušky s pěstováním hlívy ústříčné na území Československa tehdeším Stavebním melioračním družstvem Galanta a v některých JRD na Slovensku (Lepšová, 2001).

V Československu se vzhledem na tradičně zdlouhavou realizaci výzkumných výsledků otevřel podnik na pěstování hlívy v srpnu roku 1973 v JZD Liptál, okr. Vsetín. Technologie byla dosti jednoduchá a kapacita farmy malá. O dva roky později se realizovala další farma v JZD Sokolovo, Bohdalice, okr. Vyškov, v Kojátkách. Zde již byly využity zkušenosti z Liptálu a ve spolupráci s Ing. R. Rýznerem byla připravená technologie na dobré úrovni. Další farma se otevřela v JZD Kolektiv míru, Velká Bystřice Droždíně u Olomouce v roce 1982. Začátkem roku 1983 už bylo ve výstavbě dalších 5 farem hlív, z toho dvě jsou přímým pokračováním výzkumu a jeho realizací. V roce 1984 už bylo v činnosti 8 farem a ve výstavbě dalších 9, v roce 1990 bylo farem víc než 30 (Ginterová, 1992).

Po roce 1989 bylo mnoho pěstíren hlívy zrušeno z důvodů zastavení činnosti zpracovatelského průmyslu, na který byl odbyt produkce hlívy přednostně orientován. K omezení pěstování hlívy přispěla i skutečnost, že primitivní podmínky při přípravě substrátu způsobovaly kolísavou kvalitu substrátu, což činilo výrobu nerentabilní (Jablonský a Šašek, 2006).

V současné době je hlíva jako další houba součástí základního sortimentu jedlých hub. Základem výroby hlívy je příprava substrátu. Ten se u nás nevyrábí, ale dováží se do ČR z Itálie a Německa (Firma Zingel a Partner). Pěstování hlívy zajišťují specializovaní obchodníci s houbami buď sami (Zeman České houby, Samyco) případně u svých kooperačních partnerů. Důvodem, proč se u nás pěstování hlívy příliš nerozšířilo, bylo, že neexistovala spolehlivá výrobní substrátu, zajišťující kvalitní substrát. V minulosti byly vybudovány výrobní substrátu žampionů, ale žádná vyrábějící substrát pro hlívu. Pokud by u nás vznikla jedna výrobní substrátu a kolem ní se vytvořil řetězec hlíváren, podstatně by se zvýšila výroba i odbyt hlívy (Jablonský a Šašek, 2006).

Pěstované houby vyhledává na pultech obchodů stále více lidí. V kurzu je především žampion, po jehož stopách se vydala léčivá houba hlíva ústříčná. Zatímco pěstitelé žampionů převážně živoří, hlíva a také další méně obvyklé druhy hub (Shitake, portobello) přinášejí stávajícím i potenciálním pěstitelům nové šance a možnosti podnikání (Jablonský, 2004).

### 3.2.5. Požadavky hlívy na podmínky prostředí

V přírodě roste hlíva ústříčná většinou na odumřelém dřevě. Hlívy rychle rostou i na různých organických odpadech, jako je sláma, kukuřičná vřetena, hrachovina, pazdeří, vojtěškové seno nebo papír. Suroviny, na kterých hlívy rostou, můžeme charakterizovat jako lignocelulózové odpady, tedy látky obsahující lignin, celulózu a hemicelulózu (Jablonský a Šašek, 2006).

#### Teplota

Pro klíčení spor je optimální teplota 28°C. Také mycelium všech druhů hlív dosahuje maximálního růstu při teplotě kolem 28°C. Při teplotě 20°C je růst mycelia zpomalený, což kulturu hlívy může znevýhodnit proti některým kompetičním mikroorganismům. Růst mycelia se zcela zastaví při 5°C. Mycelium nepoškodí ani mráz. Substrát kolonizovaný myceliem hlívy může být vystaven teplotám pod nulou a po zvýšení teploty mycelium opět začíná růst a kultura vytváří plodnice. Problémy činí zejména v letním období přehřívání prorůstajícího substrátu v intenzivní kultuře v důsledku zvýšené aktivity mycelia houby. Víme, že mycelium hlívy odumírá, pokud je vystaveno teplotě nad 32 - 35°C v závislosti na vlhkosti substrátu. V praxi to znamená, že v letním období vrstva substrátu nemá být větší než 35 cm a do polyetylenových pytlů nedáváme více než 25 - 30 kg substrátu. Průměr pytlů nemá být větší než 35 cm (Jablonský a Šašek, 2006).

V průběhu tvorby plodnic mají jednotlivé druhy hlív svá teplotní maxima, která pokud jsou překročena, zcela znemožní nasazování plodnic. Optimální nasazování zárodků hlívy ústříčné probíhá při teplotě 8 - 12°C a zcela se zastavuje, jakmile teplota přesáhne 15°C. Hlíva ústříčná vytváří plodnice i v teplotě nad 15°C, pokud ji vystavíme předem chladovému šoku, kdy substrát prorostlý podhoubím umístíme v teplotě 5°C po dobu několika dnů. Mnohdy stačí k tvorbě plodnic vystavit kulturu hlívy ústříčné snížené noční teplotě 12 - 13°C při trvalé denní teplotě 20°C. Teplomilné druhy hlívy a někteří kříženci nasazují plodnice až do teploty 20 - 25°C a tropické hlívy dokonce ještě při teplotě 30°C (Jablonský a Šašek, 2006).

## pH

Optimální hodnota pH během růstu podhoubí hlívy ústřičné je v rozmezí 5,5 - 6,5 a u hlívy máčkové 5 - 6. Růst mycelia mimo rozmezí uvedených hodnot je zpravidla pomalejší. Při přípravě substrátu se někdy upravuje jeho pH přidavkem vápence (mleté křídý) na hodnotu 5,6 - 6,6 pH. V průběhu růstu mycelia se pH v substrátu mění. V povrchové vrstvě substrátu, kde se nasazují plodnice, jsou hodnoty pH podstatně nižší (pH 4 - 4,5) než ve vnitřních vrstvách (Jablonský a Šašek, 2006).

## Světlo

Během kolonizace substrátu hlíva osvětlení nevyžaduje, avšak podobně jako u většiny hub rostoucích na dřevě je během nasazování a vývoje plodnic potřebná určitá intenzita osvětlení. Pro vývoj normálně vyvinutých plodnic je dostačující intenzita osvětlení 100 - 400 luxů (měřeno na povrchu substrátu) po dobu 12 hodin za den. Při vyšší teplotě, kdy plodnice rostou rychleji, má hlíva větší nároky na osvětlení (až 400 luxů) než při nízkých teplotách. Na nedostatek osvětlení reaguje plodnice tvorbou protáhlého třeně a zakrnělého klobouku. V úplné tmě se vytvářejí místo plodnic temnostní formy připomínající tvarem kvěťák. Optimální osvětlení má vliv na vybarvení klobouku. Při nižší intenzitě osvětlení mají plodnice světlou barvu (Jablonský a Šašek, 2006).

## Oxid uhličitý

V průběhu vývoje se kultura hlívy vyznačuje zcela odlišnými nároky na koncentraci oxidu uhličitého v prostředí. Během kolonizace (prorůstání) substrátu dosahuje mycelium největší rychlosti růstu, pokud je v substrátu koncentrace 2000 - 3000 ppm oxidu uhličitého. Vysoká koncentrace oxidu uhličitého potlačuje růst konkurenčních zelených plísní. Proto se pěstební bloky či pytle perforují jen částečně, aby se v substrátu udržela koncentrace CO<sub>2</sub> (Jablonský a Šašek, 2006).

V průběhu nasazování a vývoje plodnic je třeba pěstírnu intenzivně větrat. Při koncentraci oxidu uhličitého, která převyšuje stanovená rozmezí, se vyvíjejí deformované plodnice. Protáhlé třeně jsou většinou šroubovitě stočené, klobouk je zakrnělý i dužnina měkká. Jinou deformací vzniklou následkem zvýšené koncentrace CO<sub>2</sub> jsou silně ztloustlé třeně se zakrnělými klobouky nebo klobouky nálevkovitého tvaru. Při 1100 ppm se výnos snižuje o 43 % a při 1500 ppm až o 80 % oproti optimální tolerované koncentraci 400 - 600 ppm. Při koncentraci 2000 ppm CO<sub>2</sub> tvorba plodnic ustává. Pěstitel musí na tvorbu

deformovaných plodnic reagovat zvýšenou výměnou vzduchu v pěstírně (Jablonský a Šašek, 2006).

### 3.2.6. Intenzivní pěstování

#### **Stavby a zařízení pěstíren**

Využívají se zděné stavby, které jsou dobře izolované a mají konstrukce chráněné parozábranou a dobře tepelně izolované, aby v létě nedocházelo k nežádoucím tepelným ziskům. Podlahy mají být omyvatelné. Pokud jsou pěstební prostory určeny k celoročnímu pěstování, vybavují se topením, které udrží i během zimního období teplotu vzduchu 8 - 12°C. V letním období se pěstují teplomilné druhy hlív, takže se chlazení do pěstíren většinou neinstaluje (Jablonský a Šašek, 2006).

Sezónně (v létě a na podzim) se dají využít různé sklady, drůbežárny, odchovny skotu, nebo lehké přístřešky (Jablonský a Šašek, 2006).

#### **Rozdělení prostor v pěstírně**

Pokud se v pěstírně vyrábí zároveň substrát, bývá objekt vybaven skladovacími prostory na slámu a manipulační plochou pro přípravu suroviny (řezání, navlhčování a manipulaci). Na přípravnou plochu navazuje pasterizační místnost nebo tunel, prostor na osazování substrátu, inkubační místnost, dozrávací místnost a plodící místnost (Jablonský a Šašek, 2006).

V poslední době si pěstitelé již sami substrát navyrábějí a kupují ho osazený či prorostlý u velkých specializovaných výrobců substrátu. V tomto případě stačí rozdělit prostory na pěstební koje, expediční prostory, sklad obalů a chladírnu (Jablonský a Šašek, 2006).

#### **Pěstební jednotky**

Substrát plníme do různých pěstebních jednotek, kterými mohou být přepravky z plastu, polyetylenové pytle, slisované bloky zabalené do samo smršťující folie, či pěstební palety ve tvaru válců či plodících stěn. Velmi důležitý je poměr substrátu na 1 m<sup>2</sup> nebo na objem místnosti. Zkušenosti ukázaly, že se zvětšujícím se množstvím substrátu na jednotku podlahové plochy klesá jakost i výnos plodnic. Nejlepší podmínky pro rozvoj plodnic jsou při

počtu 4 pytlů na 1 m<sup>2</sup> podlahové plochy, tedy zhruba 80 - 100 kg na m<sup>2</sup> (Jablonský a Šašek, 2006).

## **Substrát**

Základní surovinou pro přípravu substrátu je sláma obilovin, kukuřice nebo kukuřičná vřetena, popřípadě piliny. Pěstitel vybírá slámu, která je nejsnadněji dostupná. U nás je to sláma ozimé pšenice nebo žita. Použití samostatné ječné slámy se nedoporučuje, protože se velmi rychle rozkládá, rychle nasává vodu a snadno se pře vlhčí, čímž vzniklý substrát ztrácí strukturu. Přídavek menšího podílu ječné slámy k pšeničné slámě ale urychluje kolonizaci substrátu podhoubím a plodnice se objevují o 5 - 7 dnů dříve než na samotné pšeničné slámě. Osvědčil se i přídavek hrachoviny nebo řepkové slámy, pokud jsou kvalitní (Jablonský a Šašek, 2006).

Substrát pro hlívu je vlastně jen ovlhčená sláma, která je ale zároveň vhodným prostředím pro růst celého spektra hub, kterými bývá v přírodě přirozeně osídlena (*Fusarium* sp., *Monilia* sp., *Trichoderma* sp., *Trichothecium roseum*). Všechny zmíněné druhy hub rostou rychleji než hlíva (Jablonský a Šašek, 2006).

Vliv na růst podhoubí a výnos má nejen druh použité slámy, ale i způsob její sklizně a skladování. Vlhkost skladování slámy by měla být 13 - 15 %. Kvalitní sláma je suchá a má žlutou barvu (Jablonský a Šašek, 2006).

Komplex hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus* a další druhy *Pleurotus*) se jeví i jako nejlepší volba pro pěstování v podnebí západní Afriky. Tyto houby jsou v první řadě rozkladači celulózy a dokáží vyrůst na téměř jakémkoliv substrátu rostlinného původu, včetně zbytků z banánů, kávy, slupek z cukrové třtiny, papírových a kartonových zbytků, říční trávy, pilin a zemědělských zbytků. Tyto a další surové materiály jsou v současné době považovány za odpad. Nízko nákladový systém pěstování hub by byl přínosem. Tento proces by umožnil využití druhotné úrody vyprodukované za krátkou dobu z vedlejších produktů primárního zemědělství (Britt et al., 2009).

## **Ošetření a příprava substrátu**

Slámu nejdříve namočíme a potom podrobíme teplotnímu ošetření. Před namočením slámu nařežeme na délku 2 - 6 cm, protože takto upravená lépe a rychleji saje vodu a dá se lépe naplnit do pěstebních jednotek. Balíky slámy se nařežou na vertikálních nebo

horizontálních řezačkách nebo na štípačích slámy. Voda nesmí ulpět pouze na povrchu slámek, ale během máčení musí proniknout i do mezibuněčných prostor. Existuje několik způsobů máčení slámy. Při máčení pojme 1 díl slámy 3 díly vody. Sláma připravená k tepelnému ošetření by měla obsahovat 70 - 76 % vody (Jablonský a Šašek, 2006).

Osvědčenou metodou likvidace zárodků ostatních hub je vysoká teplota. Ve světě se používá několik modifikací tepelného ošetření – sterilizace, semisterilizace, pasterizace a řízená fermentace (Jablonský a Šašek, 2006).

Při sterilizaci se musí dosáhnout teploty 110 – 115°C, při níž se zničí jak vegetativní (aktivní mycelium), tak i klidová stadia (spory) konkurenčních hub, a to ve všech částech substrátu. Doba působení teploty závisí na množství i druhu použitého materiálu a je zpravidla 2 hodiny (Jablonský a Šašek, 2006).

Pasterizace probíhá v tunelech stejné konstrukce, jako při pasterizaci žampionového substrátu pouze s tím rozdílem, že tunely jsou vybaveny přívodem páry. Spolehlivé pasterizace se docílí pouze v případě, že substrát v tunelu má na všech místech stejnou vlhkost, protože vzduch proniká více suchým než vlhčím substrátem (Jablonský a Šašek, 2006).

Fermentace se používá u přípravy hlavně žampionového substrátu. Účelem je přetvoření složitých organických polymerů na jiné komplexní látky, které slouží výhradně k výživě žampionového mycelia (Jablonský a Šašek, 2006).

Podle použité teploty a doby trvání rozlišujeme semisterilizaci zvlhčené slámy (80 - 100°C po dobu 2 hodin) a pasterizaci (60 – 70°C po dobu 24 - 48 hodin). Při dodržení těchto hodnot se spolehlivě zničí vegetativní formy konkurenčních hub a větší části spor (Jablonský a Šašek, 2006).

Výběr metody přípravy substrátu závisí na druhu a kvalitě suroviny a na technických možnostech suché slámy (Jablonský a Šašek, 2006).

### **Sadba, sázení a prorůstání substrátu**

Pro intenzivní pěstování hlívy se používá zrnitá sadba narostlá na zrnech žita, pšenice nebo prosa. Použitá sadba musí být čerstvá. Hotová sadba se smí skladovat maximálně 2 týdny při 2 - 4°C. Stárnoucí sadba ztrácí rychle aktivitu, která je důležitá pro rychlou kolonizaci substrátu. Substrát očkujeme při teplotě 22 - 24°C, při vyšší teplotě může snadno dojít k poškození sadby. Obvykle stačí dávka sadby o 2 - 3 % hmotnosti hotového substrátu.

Čím vyšší je podíl sadby, tím více se zvyšuje aktivita substrátu a hrozí jeho přehřátí (Jablonský a Šašek, 2006).

Při sázení se sadba musí rovnoměrně promíchávat se substrátem. Během sazení je třeba substrát hodně zhutňovat. Folie, do které se substrát balí je průhledná, bílá nebo černá.

Folie se perforuje buď před, nebo po naplnění jednotek. Otvory jsou kruhového, měsíčkového nebo křížového tvaru o průměru 8 - 15 mm ve vzdálenosti 10 - 20 cm. Plocha otvorů činí 0,5 - 1,8 % z celkové plochy bloků, což odpovídá optimálnímu vývoji plodnic (Jablonský a Šašek, 2006).

Podhoubí prorůstá substrátem po dobu 14 - 17 dnů při teplotě 24 - 28°C. Teplota vzduchu během inkubace v pěstírně má být o několik stupňů nižší (20°C), čímž se udržuje teplota substrátu v uvedeném rozmezí. Teplota substrátu nesmí nikdy překročit 30°C (Jablonský a Šašek, 2006).

Bloky či pytle se v inkubátoru nemají navzájem dotýkat nebo ležet na sobě ve více vrstvách, protože z takové vrstvy se nedá odvést teplo vytvořené myceliem v substrátu. Vedle udržování teploty je třeba v pěstírně podle potřeby větrat čerstvým vzduchem a udržovat relativní vlhkost 80 - 85 % (Jablonský a Šašek, 2006).

## **Tvorba plodnic**

Mycelium musí ještě určitou dobu zrát. Během této doby probíhají významné změny uvnitř podhoubí, které předcházejí nasazování zárodků plodnic. V této době přemísťuje mycelium vodu a živiny do povrchové vrstvy substrátu. Při tomto procesu je třeba snížit teplotu vzduchu. Při nižší teplotě dosahujeme kvalitnějších plodnic (Jablonský a Šašek, 2006).

Do doby objevování se zárodků se relativní vzdušná vlhkost udržuje v rozmezí 70 – 75 % a během vývoje plodnic se zvyšuje na 85 – 90 %. U zrajících plodnic před sklizní vlhkost snižujeme na 80 %. Hlíva bývá v některých vývojových obdobích plodnic značně citlivá na zvýšenou koncentraci CO<sub>2</sub>. V období sklizně nemá být koncentrace vyšší než 800 ppm. Při koncentraci 1500 - 1800 ppm se nasazují deformované zárodky plodnic, které se dále nevyvíjejí (Jablonský a Šašek, 2006).

Během nasazování plodnic je třeba nastavit optimální intenzitu osvětlení. Osvětlovací tělesa mají být zavěšena nejméně 90 – 100 cm nad poslední vrstvou substrátu. Instaluje se zářivka o výkonu 40W na 4 m<sup>2</sup>. Nízkou intenzitu nelze vykompenzovat prodloužením jeho intervalu (Jablonský a Šašek, 2006).

## **Sklizení a skladování**

První sklizňová vlna se sbírá po 12 dnech od nasazení plodnic. Zpravidla 25 – 35 dnů od osazení substrátu v závislosti na použitém kmeni, druhu substrátu a pěstebních podmínkách. Okamžik sběru plodnic nevolíme podle velikosti, ale podle vzhledu plodnic. Sklízíme najednou celé trsy, kdy většina plodnic má mírně podvinutý okraj klobouku. Celé trsy sklizených hub se přenášejí do expedice, kde z trsů odřezáváme klobouky případně klobouky s třením dlouhým 1 cm, které se kladou buď do přepravek, nebo do malospotřebitelských vaniček (Jablonský a Šašek, 2006).

Čerstvé plodnice skladujeme při teplotě 4°C. Na rozdíl od žampionů se mohou skladovat delší dobu (Jablonský a Šašek, 2006).

Při sklizni může nastat vážný problém u pracovníků, kteří hlívu sklízí. V těchto prostorách se v době sklizně uvolňuje velké množství spor ze zrajících plodnic. Pobyt v těchto prostorách vyvolává i u zdravých osob kašel a spory mohou být příčinou trvalých dýchacích potíží. Řešení je používání respirátoru, použití speciální helmy s čelním krytem doplněné lehkým ventilátorem a filtrem a intenzivnější větrání především v zimním období, kdy se spory uvolňují pomaleji. V současné době se ověřují bez sporé kmeny nové generace, vzniklé genovými manipulacemi, které jsou tvarem plodnic i výnosem blízké tradičním produkčním kmenům (Jablonský a Šašek, 2006).

## **Choroby a škůdci hlívy**

Hlívy trpí méně chorobami oproti žampionům. To co se často považuje za chorobu, je velmi často nedodržování fyziologických nároků. Nejčastějším projevem je tvorba neúměrně dlouhých tření a malých klobouků. Příčinou je nesladění základních podmínek světla, tepla a vlhkosti. Další skupina nepravých chorob tvoří deformace způsobené špatným větráním a zapříčiněné vysokou koncentrací oxidu uhličitého, pokud se vůbec plodnice tvoří, jsou deformované (Ginterová, 1992).

Velké nebezpečí tvoří při pěstování bezobratlí hmyz. Mouchy, roztoče, chvostokoci, háďátka jsou velkým nebezpečím pro prorůstající kultury. Do substrátu se dostanou tak, že jejich zárodky přežijí nedostatečné tepelné ošetření (Ginterová, 1992).

Může dojít ke kontaminaci běžné hlenky *Stemonitis fusca*, která se do hlívárny může zanást nečistotou (Ginterová, 1992).



Při zvýšené vlhkosti vzduchu se na plodnicích objevují oranžovohnědé skvrny bakteriózy, kterou působí bakterie rodu *Pseudomonas*. Preventivní ochranou je udržování relativní vzdušné vlhkosti v žádoucím rozmezí (Jablonský a Šašek, 2006).

V intenzivní kultuře jsou pro hlívu největším nebezpečím kompetiční houby, zejména zelené plísně (Jablonský a Šašek, 2006), které zamezí hlívě přívodu kyslíku a mycelium pod koloniemi *Trichoderma* hyne. Při fruktifikaci se místa napadená *Trichoderma* projevují černými tečkami na substrátu. Napadené bloky je potřeba při kontrole odstranit (Ginterová, 1992).

### **Využití vyplozeného substrátu**

Substrát se hodí jako doplňkové krmivo nebo jako přídavek do krmné dávky pro hospodářská zvířata. Substrát dobytku neškodí a stravitelnost se biologickou činností houby v porovnání se stravitelností slámy podstatně zvýší. Zajímavé je odstranění kanibalismu a uklidňující vliv na zvířata ve stádu, která většinu času spí (Ginterová, 1992).

Vyplozený substrát po hlívě se dá použít jako organické hnojivo do půdy projevující se dezinfekčními vlastnosti, čímž se ustaluje rovnováha v půdě (Ginterová, 1992).

### 3.3. Rod *Trichoderma* sp.

Taxonomie

říše: Fungi

oddělení: Ascomycota

podkmen: Pezizomycotina

třída: Sordariomycetes

podtřída: Hypocreomycetidae

řád: Hypocreales

čeleď: Hypocreaceae

rod: *Trichoderma*

(<http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?TableKey=14682616000000067&Rec=481295&Fields>)

#### 3.3.1. Popis rodu *Trichoderma* sp. a rodu *Hypocrea* sp.

První kdo pojmenoval rod *Trichoderma* byl již v roce 1794 botanik Christiaan Hendrik Persoon, když v časopise pro botaniky poprvé uvedl klasifikaci tohoto rodu.

Další významné mezníky ve studiu tohoto rodu představují práce Dinglerové z roku 1957, Rafaie z roku 1969, Bissetta z 80. a 90. let, a z poslední doby Kubiceka, Samuelse, Chaverriové, Druzhininy a jejich spolupracovníků (Kubátová a kol., 2009).

V minulosti byly izoláty rodu *Trichoderma* „noční můrou“ mnohých badatelů, neboť fenotypové znaky těchto hub jsou dosti proměnlivé a u mnohých druhů se překrývají. Právě proto se u těchto druhů začalo záhy rozvíjet studium na molekulární úrovni. Výsledky tohoto studia potvrdily, že druhová diverzita rodu *Trichoderma* je spíše vyšší než nízká. (Kubátová, 2009). Jiná identifikace těchto druhů je obtížná, protože jsou zde jen malé odchylky v morfologii. Nicméně spousta druhů *Hypocrea* a mnoho druhů *Trichoderma*, které byly uloženy v genetické bance, nejsou stále bezpečně identifikovány a musejí být v budoucnu i nadále studovány (Schuster a Scholl, 2010).

V současné době je v databázi Mycobank 482 druhových záznamů z rodu *Hypocrea* a 328 druhových záznamů z rodu *Trichoderma*.

Rod *Trichoderma* zahrnuje mikroskopické houby a telemorfu *Hypocrea*, žijící saprofitně v půdě, v rostlinném odpadu a na mrtvém dřevě a borce (Kubátová a kol., 2009).

Rod *Hypocrea* tvoří stromata na povrchu substrátu. Tato stromata jsou poduškovitá až rozptýlená nebo nepravidelně ohraničená, světle barevná nebo černá, uvnitř hyalinní, masitá. Askoma je ostiolátní perithecium téměř kulovité až vejčité, zanořené ve stromatu se slabě vystupujícími ostiolárními papilami. Stěna askomat je složená z plochých protáhlých buněk. V centru askomat jsou apikální paralýzy, vřecka jsou unitunikální cylindrická, bez nebo s apikálním aparátem, neamyloidní, osmi sporová, někdy se mohou objevit i šestnácti sporová. Askospory jsou dvoubuněčné buňky, hyalinní nebo zelenavé. Anamorfní stadia patří do rodů *Acremonium*, *Gliocladium*, *Trichoderma* a *Verticillium*.

(<http://www.mycobank.org/MycoTaxo.aspx?Link=T&Rec=2432>)

Nejnámější druhy rodu *Hypocrea* jsou *Hypocrea rufa*, masenka ryšavá, tvořící stromata masově červené barvy (anamorfa je běžná houba *Trichoderma viridi*, zelenatka obecná) a *Hypocrea lactea*, masenka citronová, jejíž stromata jsou citronově žlutá (Kalina a Váňa, 2005).

### 3.3.2. Využití rodu *Trichoderma*

Zájem o studium tohoto rodu byl intenzivní i z důvodu, že druhy rodu *Trichoderma* patří mezi ekonomicky významné houby v pozitivním i negativním slova smyslu, podobně jako např. *Penicilium*, *Aspergillus* nebo *Fusarium*. V biotechnologiích se využívají zvláště schopnosti některých druhů produkovat celulózy či antifungální antibiotika (Kubátová a kol., 2009).

*Trichoderma* spp. jsou všudypřítomné, a jako skupina mají obrovský dopad na lidský život a funkci ekosystému. Jsou vrchním rozkladačem v ekosféře a často převládají jako hlavní komponent mykoflóry v různých půdách ve všech klimatických pásmech (Gupta et al., 2014).

Druhy *Trichoderma* osídlují půdu. Některé druhy rodu *Trichoderma* dokáží také kolonizovat kořeny rostlin a podílet se na symbiotických vztazích. V nedávné době proběhly studie, které potvrdily, že některé druhy *Trichoderma* vytvořily endofytický vztah vnitřních tkání rostlin (Gupta et al., 2014).

*Trichoderma* spp. dokáže mít pozitivní vliv na rostlinnou produkci molekul, které podporují jejich růst, a také stimulaci rostlinné obrany proti kořenovým a nadzemním patogenům (Gupta et al., 2014).

Na druhé straně působí zástupci rodu *Trichoderma* značné ztráty např. v pěstírnách žampionů (nejčastěji u *Agaricus bisporus*) v Evropě a v Severní Americe (Kubátová, 2009).

Některé druhy parazitují na jiných houbách (Kubátová, 2009).

Všechny tyto vlastnosti dělají z rodu *Trichoderma* jeden z nejzajímavějších rodů hub s nejširším rozsahem schopností, který má stále co nabídnout k detailnímu prozkoumávání (Gupta et al., 2014).

### 3.3.3. Výskyt a identifikace zelené plísně rodu *Trichoderma*

První prudká epidemie způsobená houbou *Trichoderma*, byla pozorována v Severním Irsku v roce 1985 a do roku 1998 byla uváděna také z Velké Británie, Nizozemska, Francie a Španělska, v roce 2002 z Polska a poté i z Maďarska. Houba se také objevila na začátku 90. let minulého století v USA a Kanadě (Kubátová a kol., 2009).

Ve zkoumaném žampionovém substrátu bylo identifikováno sedm druhů *Trichoderma*: *T. aggressivum* f. *europaeum* (17 vzorků), *T. harzianum* (tři vzorky), *T. longibrachiatum* (čtyři vzorky), *T. ghanense* (jeden vzorek), *T. asperellum* (čtyři vzorky), *T. atroviride* (devět vzorků), a stále neobjevený fylogenetický druh, *Trichoderma* sp. DAOM 175924, který byl nalezen v substrátu kultivací u *Pleurotus* (Hatvani et al., 2007).

Kmeny zodpovědné za zelenou plíseň žampionů byly původně označovány jako *Trichoderma harzianum* (telemorfa *Hypocrea lixii*), biotop Th 1 a Th 4. Odlišnosti od ITS rDNA regionu, sekvencí pro translokační a elongační faktor 1  $\alpha$  (EF - 1 $\alpha$ ) a nepatrné rozdíly mikromorfologii a růstových rychlostech vedly k vymezení nového druhu *T. aggressivum* se dvěma formami odpovídajícími biotopům Th 2 forma *europaeum*, známá z Evropy, a Th 4 forma *aggressivum* ze Severní Ameriky (Chaverria and Samuels, 2002).

Rozšíření tohoto nového druhu přináší otázky, jak je možné, že jím způsobované infekce byly vyzorovány pouze v poslední době. Získaná data dokumentují, že choroba zelené plísně způsobena *T. aggressivum* f. *europaeum* se geograficky rozšířila do střední Evropy (Hatvani et al., 2007).

Celosvětová produkce hlívy ústřičné (*Pleurotus ostreatus*) je v současné době ohrožená útoky zelenou plísní hlívy ústřičné, která je obdobou zelené plísně žampionů. S využitím integrovaného přístupu k rozpoznání druhu, zahrnující analýzy morfologických a fyziologických znaků a uplatňování genealogickou shodou různých fylogenetických markerů (interní přepisuje distančním 1 [ITS1] a ITS2 sekvencí; dílčích sekvencí *tef1* a *chi18 - 5*), bylo zjištěno, že původci tohoto onemocnění byly dva geneticky úzce související, ale fenotypově

silně odlišné druhy *Trichoderma*, které byly v poslední době popsány jako *Trichoderma pleurotum* a *Trichoderma pleuroticola* (Komon - Żelazowské et al., 2007).

Oba druhy byly nalezeny na substrátech v Evropě, Íránu a Jižní Koreji, ale *T. pleuroticola* byla také izolována z půdy a dřeva v Kanadě, Spojených státech, Evropě, Íránu a na Novém Zélandu (Komon - Żelazowské et al., 2007). Celosvětové rozšíření těchto dvou druhů poukazuje na možnost rozšiřující se epidemie (Hatvani et al., 2007)

Skutečnost, že infekce *T. pleuroticola* a *T. pleurotum* se jen v poslední době dramaticky zvýšila, naznačuje, že je speciálním spouštěčem infekcí, které mohou zahrnovat použitý substrát pro kultivace, jeho příprava, nebo jiné podmínky při pěstování hub. Znamená to, že pokud tento spouštěč může být určen, dá se riziko infekce omezit (Komon - Żelazowské et al., 2007).

Park et al. (2006), zjistil, že nemoci zelené plísně *Trichoderma* u *Pleurotus* z Koreje představuje dva nové druhy (*T. pleuroticola* a *T. pleurotum*), které lze rozlišit morfologickými znaky a sekvencemi ITS2, tef1 a fragmenty rpb2 (RNA polymeráza II pod jednotkové kódování) genu. Jejich výsledky bohužel nelze vyhodnotit, jelikož většina jejich sekvencí, všechna zarovnaní a fylogenetické posloupnosti nejsou k dispozici. Pouze ITS1 - 5.8S rDNA - ITS2 z nových vzorků byly nalezeny v GenBank (přístupová čísla DQ164405 až DQ164410) a jejich analýzy v TrichOKey a TrichoBLAST ukázaly, že byly identické vzorkům *Trichoderma* sp. DAOM 175924.

Park et al. (2006) nenahlásil nová jména pro tyto dva druhy. V této práci jsou popisovány jako *Trichoderma pleurotum* a *Trichoderma pleuroticola*.

Stejný fylotyp ITS1 známý z Koreje pro *T. pleuroticola* způsobil zelenou plíseň na maďarské farmě pro pěstování hlív (Hatvani et al., 2007). Studie ukázala, že dva odlišné, i když geneticky blízce příbuzné druhy *T. pleurotum* a *T. pleuroticola* společně s *T. aggressivum* byly původci onemocnění zelené plísně v Maďarsku, Polsku, Rumunsku a Itálii (Hatvani et al., 2007; Komon - Żelazowska et al., 2007).

Hatvani et al. (2007) uvádí, že jména těchto předpokládaných nových druhů nebyla publikována dle pravidel pro botanickou nomenklaturu a většina jejich genových sekvencí nebyla během této studie k mání, stále se používá název *Trichoderma* sp. DAOM 175924, a to dokud nebude vyjasněna taxonomická klasifikace tohoto druhu a jeho případné rozdělení na dva.

Téměř sto padesát let trvající způsob nezávislého pojmenovávání nepohlavních a pohlavních morfologických znaků nelišejníkových pleomorfních Ascomycetes a Basidiomycetes je vyřešeno. Na základě ICN (Mezinárodní kód botanické nomenklatury)

byly zavedeny postupy k zavedení způsobu jedno jméno = jedna houbová nomenklatura (Bissett et al., 2015). V tomto případě byla *Trichoderma* Pers. pojmenována v 1794 a tudíž zveřejněna dříve než *Hypocrea* Fr. 1825. Bylo rozhodnuto o přednosti pro *Trichoderma* (s nepohlavně typizovaným druhem) před *Hypocrea* (s pohlavně typizovaným druhem). Byl vytvořen a odsouhlasen seznam uznaných jmen pro rod *Trichoderma* v roce 2015 (Bissett et al., 2015).

Až na několik výjimek popsanych v tomto seznamu se jméno považuje za používané, pokud je reprezentováno kulturou a/nebo diagnostickými DNA sekvencemi, které jsou uloženy v GenBank. Zde se věří, že spolehlivé identifikace druhu *Trichoderma* lze s ojedinělými výjimkami dosáhnout za pomoci srovnání diagnostických sekvencí, jako např. Tef1. V tomto seznamu jsou zapsány dva druhy: *Trichoderma pleuroti* S. H. Yu & M. S. Park, [jako "*pleurotum* "] a *Trichoderma pleurotica* S. H. Yu & M. S. Park. Získané a ověřené kultivační metodou na PDA, která byla izolovaná z odpadní bavlny ze substrátu hlívy ústříčné v Koreji (Bissett et al., 2015).

#### **3.3.4. *Trichoderma pleurotica* S. H. Yu a M. S. Park**

Kolonie (na PDA při 25 °C po 3 dnech) rostou rychle, 60 - 65 mm v průměru. Konidie rozevláté, shluklé, malé puchýřky sražené a formující široké soustředné kruhy; nejdříve nazelenalé šedé mění se na šedozelenou až po tmavě zelenou barvu. Konidiofory mají tendenci být pravidelné ve tvaru nahuštěných kruhů a formují víceméně pyramidovou strukturu. Fialidy baňkovité až lahvicovité, většinou 3 - 4 květnaté nebo párové, občas jednotlivě zvedající se, 5,5 – 11,0 x 2,6 – 4,0 μm (av. 3,3 × 2,7 μm), hladko - stěnné, bledě zelené. Chlamydostry téměř kulové až elipsoidní, 5,0 – 10,0 μm v průměru (Park et al., 2006).

#### **3.3.5. *Trichoderma pleuroti* S. H. Yu a M. S. Park.**

Kolonie (na PDA při 25 °C po 3 dnech) rostou rychle, 52 – 60 mm v průměru. Konidie řídké a práškové; nazelenalé bílé nebo naředlé zelené, tmavne s věkem. Konidiofory většinou jednoduše větvené; primární větve mají tendenci držet se v téměř pravých úhlech, vrcholky konidioforů a primárních větví většinou s konidioformem podobnému rodu *Gliocladium*, skládající se z 2 - 4 větví zakončených nahuštěnými kruhy fialid relativně široké. Fialidy z většiny baňkovité tvaru, ne moc často lahvicovité, zpravidla vyrůstající v nahuštěných kruzích

4 - 7, 4,2 - 7,0 x 2,0 - 4,0  $\mu\text{m}$ . Konidie elipsoidní až obvejčité, 2,8 - 4,2 x 1,6 - 2,2  $\mu\text{m}$  (průměr 3,4 x 2,0  $\mu\text{m}$ ), hladko stěnné, bledě zelené. Chlamydospory téměř kulovité až elipsoidní, hladko stěnné, 5,0 - 10,0  $\mu\text{m}$  průměr (Park et al., 2006).

Na stránkách Mycobank se uvádí synonymum k tomuto druhu pod názvem *Trichoderma pleurotum* S. H. Yu a M.S. Park.

### 3.3.6. *Trichoderma pleuroti* na substrátu

Druhy *Trichoderma* spp. jsou velmi dobrými kolonizátory v místě výskytu, což se odráží na jejich efektivním využití substrátu, stejně jako jejich schopnosti využít antibiotických metabolitů a enzymů. Jsou schopny si poradit v různém prostředí, jak s biotopem tropického deštného pralesa, tak i s temným, sterilním prostředím v biochemickém průmyslu. I za těchto rozdílných podmínek jsou schopny růst a produkovat enzymy (Schuster a Scholl, 2010).

Selektivnost substrátu pro pěstování hlívy zajišťují termofilní bakterie (zvláště rodu *Bacillus*), popřípadě rychle rostoucí termofilní houby (*Mucor pusillus*), které čerpají živiny snadno přístupné pro kompetiční houby (*Trichoderma* a jiné), vytvářející méně přístupné látky - polysacharidy a antibiotika. Přidáním buněk účinného kmene *Bacillus macerans* před fermentací substrátu kontaminovaného plísněmi se množství plísní sníží a výnosy plodnic *Pleurotus* se zvýší (Staněk a Bisko, 1982). Pokud má ovšem *Trichoderma pleuroti* prostor pro svůj růst a neomezuje ji *Bacillus*, její růst je rychlý a agresivní, což potvrdily i výsledky pokusů od Jablonského a Novotného (2015). Ukázalo se rovněž, že v důsledku činnosti bakterií se mění složení ve vodě rozpustných polysacharidů vyskytujících se v substrátu, což rovněž může ovlivnit vztahy mezi myceliem hlívy a kompetičními plísněmi (Staněk a Bisko, 1982).

Druh *Trichoderma pleuroti* se vyskytuje pouze v pěstírnách hlívy a není znám z jiných substrátů. Do pěstíren byl zanesen nedávno, pravděpodobně se substrátem obsahujícím infikované rostlinné zbytky (Jablonský a Novotný, 2015). Ovšem Komon - Zelazowska (2007) tvrdí, že v posledních letech bylo dosaženo závěru, že kultivované hlívy jsou napadeny primárně dvěma blízkými příbuznými druhy rodu *Trichoderma*, a to *T. pleurotum* a *T. pleurotica*. Jejich přítomnost byla zaznamenána v komerčních kulturách rodu *Pleurotus* a také v přirozeném výskytu této houby (Siwulski et al., 2011)

*T. pleurotica* je ovšem běžný kosmopolitní druh na půdách, který se neomezuje pouze na pěstování *Pleurotus*.

(<http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?TableKey=14682616000000063&Rec=40617&Fields=All>)

### 3.3.7. Strategie *Trichoderma pleuroti*

*Trichoderma pleuroti* kolonizuje většinou povrch substrátu a brání tvorbě plodnic, ačkoliv je většina substrátu v bloku či pytli kolonizována myceliem hlívy. I přes intenzivní výzkum se nepodařilo zjistit, jak účinně výskyt druhů rodu *Trichoderma* omezit (Jablonský a Novotný, 2015).

Pokusy s růstem *Trichoderma pleuroti* a *Trichoderma pleuroticola* na PDA mediu nepřinesly žádné významné rozdíly v průměru kolonií po pětidenní inkubaci. Všechny pozorované vzorky *T. pleuroticola* projeví výraznější větší průměry kolonií po inkubační době než vzorky *T. pleurotum* (Sobieralski et al., 2012). Výsledky podporují pozorování Komon - Żelazowské et al. (2007) ohledně rychlejšího růstu podhoubí *Pleurotus ostreatus* vzorky *T. pleuroticola*.

Sobieralski et al. (2012) pozoroval, že *T. pleuroticola* poroste podhoubí *P. ostreatus*, naproti tomu *T. pleurotum* proniká až 3 mm dovnitř podhoubí *P. ostreatus* a potom přestává přerůstat podhoubí hlívy ústříčné. Provedená šetření napovídají, že zkoumané hlívy projeví jisté negativní reakce proti vzorkům *T. pleurotum*. Pokusy potvrdily fakt, že žádné ze zkoumaných podhoubí hlív neprojeví negativní reakci na *T. pleuroticola* (Sobieralski et al., 2012).

V literatuře lze nalézt informace o jistých druzích hub, které ukazují obrannou reakci vůči některým agresivním druhům *Trichoderma*. Taková reakce se projevila u hub shiitake (*Lentinula edodes*). *Trichoderma* zpomalí růst podhoubí některých druhů *Pleurotus* (Sobieralski et al., 2012).

Siwuslski et al. (2011) provedl výzkum zaměřený na nalezení rozdílů v růstu mycelia u několika vzorků *T. pleurotum* a *T. pleuroticola* z různých domácích a zahraničních sbírek a na určení biotické interakce s *Pleurotus osteratus* cv. Florida. Vzorky *Trichoderma pleuroticola* bránily růstu mycelia *P. osteratus* cv. Florida ve vyšší míře než vzorky *T. pleurotum*. Zkoumané řetězce *P. osteratus* cv. Florida se svou reakcí na přítomnost *T. pleurotum* různily.



## 4. Materiál a metody

### 4.1. Materiál

#### 4.1.1. Agarové živné medium

V prvním a druhém pokusu bylo k očkování použito agarové kultivační medium, na kterém bylo napěstováno mycelium v Petriho miskách.

2 % agarové živné medium se připravuje:

Agar 20 g

sladinový extrakt 20 g

voda 1000 ml

Vše musí být ošetřeno sterilizací při teplotě 110 °C po dobu 20 minut.

#### 4.1.2. Pšeničná sláma

Pšeničná sláma byla nařezána na části o délce 2–6 cm a den před založením pokusu namočena, přičemž přebytečná voda se nechala volně odtéci.

#### 4.1.3. Pšeničné pelety

Pšeničné pelety se připravují lisováním nadrcené slámy pod tlakem a díky svým vlastnostem mohou sloužit jako substrát pro pěstování hlívy ústříčné.

Pelety byly při pokusu zalévány vroucí vodou. Množství vody bylo stanoveno dle požadavků na vlhkost substrátu. Po zalití byly ponechány ve vodě cca 15 minut k nasáknutí. Poté se vysypaly do velké nádoby, kde byly promíchány, aby se docílilo co nejlepšího a vyrovnaného vlhkostního průměru v substrátu. Po přirozeném zchladnutí byly pelety dle jednotlivých pokusů plněny do PE-HD rukávů nebo do sklenic.

#### 4.1.4. Polyetylenové rukávy

K některým pokusům byly použity PE - HD rukávy s kalibrovaným průměrem 10 cm od výrobce Devro, s. r. o..

PE - HD rukávy byly nastříhány na délku 45 cm. Na obou koncích byly uzavřeny zátkami z molitanu o velikosti cca 3x3x3 cm z důvodu umožnění přístupu vzduchu pro

naočkované kultury. Konce se zátkami byly zavázány provázkem, který v úvazku musí být pevný, ale ne příliš těsný.

Pro střední část střeva bez úvazků byla stanovena délka cca 30 cm.

#### **4.1.5. Zavařovací sklenice**

Používaly se Omnia sklenice o objemu 720 ml.

#### **4.1.6. Laboratorní pomůcky**

K odměřování vody byly použity laboratorní odměrky. Při očkování se používaly běžné laboratorní pomůcky – skalpel, lžičky, pinzety. Desinfekce tohoto náradí byla provedena lihem a opálením kahanem. K ohřevu vody sloužila běžná rychlovarná konvice. Popisovalo se permanentními lihovými fixy, aby nedošlo při sterilizaci v autoklávech ke smazání nutného označení.

Sterilizace byla provedena v přístroji autoklávu PS 121 V, ve kterém se sterilizují pevné materiály. Dojde zde ke zničení zárodků v substrátu, ale i z pevných předmětů (sklenic, PE-HD rukávů). Sterilizace probíhá při teplotě 100- 120 °C po dobu 60 minut.

#### **4.1.7. Použité kmeny hub**

Hlíva ústříčná

*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. CPPF 5117 pocházející z Číny, izoloval I. Jablonský jako P11 v roce 2007, determinoval I. Jablonský v roce 2007, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. CPPF 5145 pocházející z České republiky, izoloval D. Novotný v roce 2013, determinoval D. Novotný v roce 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. CPPF 5146 pocházející z České republiky, izoloval D.

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

*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. CPPF 5147 pocházející z České republiky, izoloval D. Novotný v roce 2013, determinoval D. Novotný v roce 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. CPPF 5150 pocházející z České republiky, izoloval D. Novotný v roce 2013, determinoval D. Novotný v roce 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. HK 35 hybridní kultivar maďarského původu.

*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. SPOPO 165 původ kmene firma Sylvan.

*Trichoderma pleuroti* kmen CPPF 534 byl izolován z hlíivového substrátu z pěstírny hlíivy z blízkosti Bučovic (jižní Morava), izoloval D. Novotný VI. 2013 jako TPRR6B, determinoval D. Novotný 2013, uložen je ve Sbírce fytopatogenních hub (CPPF) Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Praze-Ruzyni.

## 4.2. Metody

Všechny pokusy byly realizovány v laboratořích a prostorách Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i., Praha – Ruzyně.

### 4.2.1. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti *Trichoderma pleuroti*

Založení pokusu: 3.3. - 4.3. 2016

Pokus č. 1.

Postup při založení pokusu:

1. den

Příprava substrátu, PE- HD rukávů (dále jen rukáv) a ošetření substrát pro založení pokusu byla použita pšeničná sláma. Den předem se provedlo namočení slámy a přebytečná voda se nechala samovolně odtéci. Takto namočená sláma se naplnila do rukávů. Rukávy jsou dlouhé 45 cm a na obou koncích zavázané provázky a opatřené molitanovými zátkami. Délka středu rukávu bez úvazků byla stanovena na cca 30 cm.

Takto naplněné rukávy byly sterilizovány v autoklávu. Vysterilizované naplněné rukávy se nechali přirozeně zchladnout do druhého dne.

2. den

Očkování

Pomocí pravítka byl stanoven střed rukávu a 6 – 7 cm od středu byla naočkována po obou stranách hlíva ústříčná; stejně jsme postupovali u všech pokusných rukávů. Po naočkování bylo dané místo ihned uzavřeno páskou Parafilm, aby nedošlo ke kontaminaci. Nakonec se do středu rukávu naočkovalo *Trichoderma pleuroti*, opět u všech rukávů uzavřeno Parafilmem.

Očkovali jsme z Petriho misek, na kterých bylo na agaru napěstováno mycelium hlívy ústříčné i *Trichoderma pleuroti*. Očkování bylo provedeno ve flow-boxu v laboratoři velkým kouskem mycelia na agaru 5x 5 mm stejně jako v předchozím pokusu.

Všechny rukávy byly písemně označeny datem očkování a kombinací naočkovaných kultur.

Očkované varianty:

hlíva ústříčná CPPF 5146

hlíva ústříčná CPPF 5146 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

hlíva ústříčná CPPF 5147

hlíva ústříčná CPPF 5147 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

hlíva ústříčná CPPF 5017

hlíva ústříčná CPPF 5017 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

Všechny varianty byly po 5 opakováních.

Rukávy byly umístěny do termostatu, kde byla nastavena teplota 20 °C a vlhkost 60 %, tak, aby se mezi sebou vzájemně nedotýkaly a vzduch mezi nimi mohl bez překážek proudit.

#### **4.2.2. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti *Trichoderma pleuroti***

Založení pokusu: 28.4. - 29.4. 2016

Pokus č. 2.

Postup při založení pokusu:

Pokus číslo dvě byl založen stejně jako pokus č. 1. Jen s rozdílem, že byly použity jiné kmeny hlívy ústříčné.

Očkované varianty:

hlíva ústříčná CPPF 5150

hlíva ústříčná CPPF 5150 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

hlíva ústříčná CPPF 5147

hlíva ústříčná CPPF 5147 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

hlíva ústříčná CPPF 5145

hlíva ústříčná CPPF 5145 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

hlíva ústříčná HK 35

hlíva ústříčná HK 35 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

Všechny varianty po 5 kusech.

Rukávy byly umístěny do termostatu, kde byla nastavena teplota 20 °C a vlhkost 60 %, tak, aby se mezi sebou vzájemně nedotýkaly a vzduch mezi nimi mohl bez překážek proudit.

#### **4.2.3. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti *Trichoderma pleuroti***

Založení pokusu: 23.6. - 24.6. 2016

Pokus č. 3.

Postup při založení pokusu:

1. den

Příprava substrátu a naplnění rukávů, ošetření sterilizací a pasterizací

Pšeničná sláma byla den předem namočena, přebytečná voda se nechala odtéci.

Pšeničné pelety byly zality vroucí vodou v poměru 1 díl pelet a 2 díly vody. Byly nasypány do větší nádoby a nechaly se zchladnout. Takto připravené substráty se naplnily do PE-HD rukávů o průměru 10 cm a délce 45 cm. Oba konce byly zavázány provázkem s molitanovou zátkou.

Bylo založeno 21 rukávů s peletami a 22 s pšeničnou slámou. Polovina od každé varianty byla ošetřena sterilizací v autoklávu a druhá polovina pasterizací při teplotě 60°C v zavařovacím hrnci po dobu 180 minut. Po ošetření se vše nechalo přirozeně zchladnout do druhého dne.

2. den

Očkování

Očkovalo se celkem 43 rukávů. Kmen hlívy ústříčné ve formě zrnité sadby a *Trichoderma pleuroti* ve formě kultury na agaru. Nejdříve se za očkovala u všech rukávů hlíva ústříčná a následně, se očkovala *Trichoderma pleuroti* z agarové kultury asi 5x5 mm velkým kouskem, stejně jako v předcházejícím pokusu.

Varianty:

Sterilizace pelety - hlíva ústříčná HK 35 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534 - 6 rukávů

Sterilizace pelety - hlíva ústříčná HK 35 - 5 rukávů

Pasterizace pelety - hlíva ústříčná HK 35 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534 - 5 rukávů

Pasterizace pelety - hlíva ústříčná HK 35 - 5 rukávů

Sterilizace sláma - hlíva ústříčná HK 35 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534 - 5 rukávů

Sterilizace sláma - hlíva ústříčná HK 35 - 5 rukávů

Pasterizace sláma - hlíva ústříčná HK 35 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534 - 6 rukávů

Pasterizace sláma - hlíva ústříčná HK 35 - 6 rukávů

Vše bylo uloženo do termostatu při teplotě 20 °C a vlhkosti 60 %.

#### **4.2.4. Hodnocení vlhkosti substrátu v PE - HD rukávu při ošetření sterilizací**

##### **Má sterilizace zásadní vliv na zvýšení vlhkosti substrátu v PE - HD rukávu?**

Založení pokusu: 12.7. 2016

Pokus č. 4.

Postup při založení pokusu:

1 kg pelet se smíchal s 1800 ml vroucí vody a pelety se nechaly nabobtnat. Následně byly přesypány do větší nádoby a důkladně promíchány; nechaly se odstát a odebral se náhodně kontrolní vzorek. Promíchávání jsme provedli elektrickou vrtačkou s nástavcem míchadla. Následně bylo naplněno 12 rukávů o délce 45 cm; konce rukávů byly zavázány provázkem a opatřeny molitanovou zátkou. Rukávy byly sterilizovány po 4 kusech ve třech autoklávech. Ve dvou autoklávech jsme navíc zabalili rukávy do dalšího igelitového obalu tak, aby nemohly přijímat žádnou vlhkost.

Po sterilizaci jsme náhodně vybrali dva rukávy z každého autoklávu a u odebraných vzorků zjistili vlhkost po sterilizaci.

#### **4.2.5. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti *Trichoderma pleuroti***

##### **Hodnocení vlhkosti substrátu v PE - HD rukávech**

Založení pokusu: 20. - 21. 7.2016

Pokus č. 5.

Postup při založení pokusu:

1. den

Příprava substrátu a naplnění rukávů, ošetření sterilizací

1 kg pelet se smíchal s 2050 ml vřelé vody a nechal se nabobtnat. Nasáklé pelety jsme vysypali do větší nádoby a důkladně promíchali. Promíchávali jsme elektrickou vrtačkou s nástavcem míchadla. Odebrali jsme náhodný kontrolní vzorek před plněním do rukávů.

Rukávy měly délku 45 cm a konce byly zavázány provázkem a opatřeny molitanovou zátkou. Naplnili jsme 35 kusů rukávů pro založení pokusu a 4 rukávy pro kontrolu vlhkosti substrátu. Sterilizace probíhala v autoklávech.

Po sterilizaci se nechaly rukávy přirozeně zchladnout, byly náhodně vybrány 4 kusy a z nich odebrány vzorky. Vzorky byly odebírány ze střední části, kde probíhalo očkování.

2. den

Očkování

Očkovali jsme 35 kusů rukávů zrnitou sadbou hlívy ústříčné a *Trichoderma pleuroti*. Rukáv byl rozměřen pravítkem, 6-7 cm od středu naočkována po obou stranách hlíva ústříčná a do středu následně *Trichoderma pleuroti*.

Očkovací dávkou sadby byl obsah jedné malé laboratorní lžičky. Postup jsme použili následující: lihem jsme vydesinfikovali povrch rukávu v místě očkování, poté byl proveden zářez skalpelem do křížepřiměřené velikosti. Po naočkování bylo místo ihned uzavřeno Parafilmem, aby nedošlo ke kontaminaci. Všechny nástroje byly sterilizovány pomocí lihu a ožehnutí nad kahanem. Po očkování byl rukáv ihned popsán datem a kombinací (kmen hlívy ústříčné a *Trichoderma pleuroti*, nebo hlíva ústříčná kontrola – samostatně.

Rukávy byly umístěny do termostatu a nastavená teplota 22- 23 °C a vlhkost vzduchu 60 %.

Varianty:

hlíva ústříčná HK 35

hlíva ústříčná SPOPO 165

hlíva ústříčná HK 35 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

hlíva ústříčná SPOPO 165 a *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

*Trichoderma pleuroti* CPPF 534

Všechny varianty po 7 kusech.

#### **4.2.6. Vliv vlhkosti substrátu na růst hlívy ústříčné a *Trichoderma pleuroti***

##### **Kontrola vlhkosti substrátu**

Založení pokusu: 10. - 11.8. 2016

Pokus č. 6.

Postup při založení pokusu:

1. den

Příprava substrátu a naplnění do sklenic a rukávů, sterilizace

Kontrola vlhkosti substrátu

Nádobami pro založení pokusu byly sklenice a PE-HD rukávy. 1 kg suchých pelet byl zalit požadovaným množstvím vroucí vody vypočítaným dle vlhkosti substrátu (viz. tabulka). Pelety dobře nasáklé nasypeme do větší nádoby a důkladně promíchány elektrickou vrtačkou s nástavcem míchadla. Po promíchání jsme náhodně odebrali 2 vzorky pro zpětnou kontrolu vlhkosti.



Použité množství vody na 1 kg suchých pelet.

Vlhkost v %	Váha pelet	Množství vody
65%	1 kg	1857 ml
67%	1 kg	2030 ml
69%	1 kg	2225 ml
71%	1 kg	2248 ml
73%	1 kg	2703 ml
75%	1 kg	3000 ml

Dle jednotlivých hodnot vlhkosti se substrát plnil do sklenic (12 ks od každé hodnoty vlhkosti) a rukávů (3 ks od každé hodnoty vlhkosti). Sklenice se naplnily asi 10 mm pod okraj, uzavřely alobalem a ihned popsaly procentuálními hodnotami vlhkosti. Rukáv měl délku 45 cm a okraje byly zavázány provázkem a opatřeny molitanovou zátkou. Také v tomto případě se ihned po přípravě vše popisovalo.

Vše bylo vysterilizováno v autoklávu.

Odebrané vzorky byly pro kontrolu vlhkosti usušeny v sušičce a dopočítány skutečné vlhkosti substrátu.

2. den

Vysterilizované a zchladlé sklenice a rukávy byly naočkovány zrnitou sadbou.

**Sklenice** byly očkované po 6 kusech od každé hodnoty vlhkosti hlívu ústříčnou kmen 35 a po 6 kusech od každé vlhkosti *Trichoderma pleuroti*. Očkovali jsme 1 malou laboratorní lžičkou na povrch substrátu pod alobal. Nejdříve jsme naočkovali všechny sklenice hlívu ústříčnou, a potom *Trichoderma pleuroti*.

Varianty:

65 % vlhkost substrátu naočkovaná hlíva ústříčná HK 35

67 % vlhkost substrátu naočkovaná hlíva ústříčná HK 35

69 % vlhkost substrátu naočkovaná hlíva ústříčná HK 35

71 % vlhkost substrátu naočkovaná hlíva ústříčná HK 35

73 % vlhkost substrátu naočkovaná hlíva ústříčná HK 35

75 % vlhkost substrátu naočkovaná hlíva ústříčná HK 35

65 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
67 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
69 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
71 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
73 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
75 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

Celkem bylo naočkováno 72 sklenic.

Měření přírůstků ve sklenicích bylo prováděno tak, že obvod sklenice byl rozdělen po 45° a nakresleny 4 osy vertikálně. Mycelium prorůstalo nestejně sklenic a bylo měřeno v mm.

**Rukávy** jsme očkovali po 3 kusech od každé hodnoty vlhkosti vždy do středu jednou malou laboratorní lžičkou zrnité sadby *Trichoderma pleuroti*. Následující postup jako v předchozích pokusu.

Varianty:

65 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
67 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
69 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
71 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
73 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534  
75 % vlhkost substrátu naočkovaná *Trichoderma pleuroti* CPPF 534

Celkem naočkováno 18 rukávů.

Vše bylo umístěno do termostatu při teplotě 23 °C a vlhkosti 60%.

## 5. Výsledky

### 5.1. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti *Trichoderma pleuroti*

Při těchto pokusech byla použita jako substrát pšeničná sláma, která se běžně používá při pěstování hlívy ústříčné v pěstírnách. Ošetření substrátu bylo provedeno sterilizací. K očkování byla použita kultura narostlá na agaru. V prvním a druhém pokusu nedošlo k dostatečnému nárůstu mycelia hlívy ústříčné ani *Trichoderma pleuroti* nerostla. Nebylo provedeno žádné měření.

V dalším pokusu byly použity 2 typy substrátu – pšeničné pelety a nařezaná pšeničná sláma – a ošetření substrátu probíhalo sterilizací a pasterizací. V rukávech došlo při ošetření substrátu pasterizací (hlavně u pšeničných pelet) k přemokření. Přemokření bylo patrné při kontrole a prováděném prvním měření. V silně přemokřených rukávech vykazovala hlíva ústříčná menší přírůstky a byly značné výkyvy i v přírůstcích na slámě ošetřené pasterizací. Pokus byl pro nestandardní podmínky ukončen.

V návaznosti na zkušenosti z těchto pokusů byly provedeny kontrolní pokusy na vlhkost substrátu.

## 5.2. Hodnocení vlhkosti substrátu v PE-HD rukávu při ošetření sterilizací

1 kg pelet se smíchal s 1800 ml vroucí vody a nechal se nabobtnat. Po sterilizaci v autoklávu volně ložených i zabalených rukávů se provedla kontrola vlhkosti substrátu a porovnána s kontrolním vzorkem. Kontrolní vzorek odebraný před plněním do rukávů měl vlhkost 63,109 %. Volně ložené rukávy po sterilizaci měly vlhkost 67,294 % a 66,164 %. Zatavené rukávy při sterilizaci měly vlhkost 63,105 %, 66,725 %, 65,063 % a 66,338 %.

Hodnoty 63,109 % před sterilizací a 63,105 % po sterilizaci v zataveném rukávu jsou identické, nemohlo dojít po ošetření k následné zvýšení vlhkosti. Hodnoty 67,294 % a 66,164 % u volně ložených rukávů a 66,725 %, 65,063 % a 66,338 % u rukávu zatavených ve folii jsou mezi sebou v maximálním rozdílu hodnot 2,231 %.

Rozdíl hodnot 63,109 % před ošetřením a nejvyšší hodnoty po sterilizaci v PE – HD rukávu volně ložených je 4,185 %.

Příprava substrátu a jeho dostatečné promíchání mají vliv na rozložení rovnoměrné vlhkosti v substrátu před plněním do pokusných nádob, nebo PE – HD rukávů.

Z pokusu a výsledných hodnot je patrné, že ošetření substrátu v autoklávu nemá vliv na zvýšení vlhkosti substrátu v PE – HD rukávech. V návaznosti na toto zjištění bylo upraveno množství vody pro přípravu substrátu u dalšího pokusu.

### 5.3. Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti *Trichoderma pleuroti*

#### Hodnocení vlhkosti substrátu v PE – HD rukávech

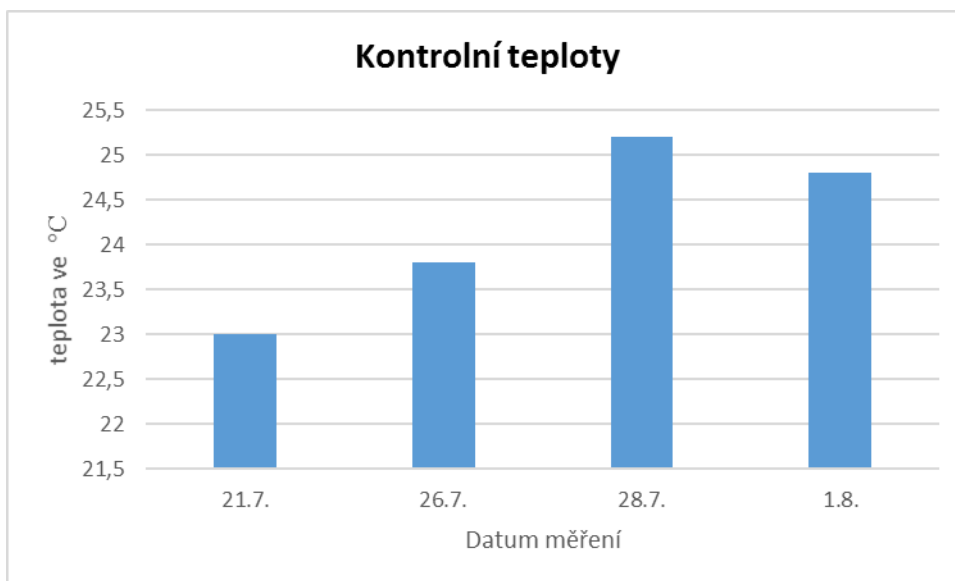
Vlhkost substrátu byla zkontrolována jedním kontrolním vzorkem, jehož hodnota byla 66,670 % a 4 vzorky po sterilizaci, které měly hodnoty 67,074 %, 66,033 %, 65,391 % a 66,185 %.

Hodnoty vlhkosti substrátu po ošetření sterilizací mají nejnižší hodnotu 65,391 % a nejvyšší 67,074 %, rozdíl hodnot je 1,683 %. Došlo k snížení rozdílu mezi hodnotou kontrolního vzorku před sterilizací a vzorky, které byly volně ložené a sterilizované v autoklávu. Vlhkost substrátu byla vyrovnaná.

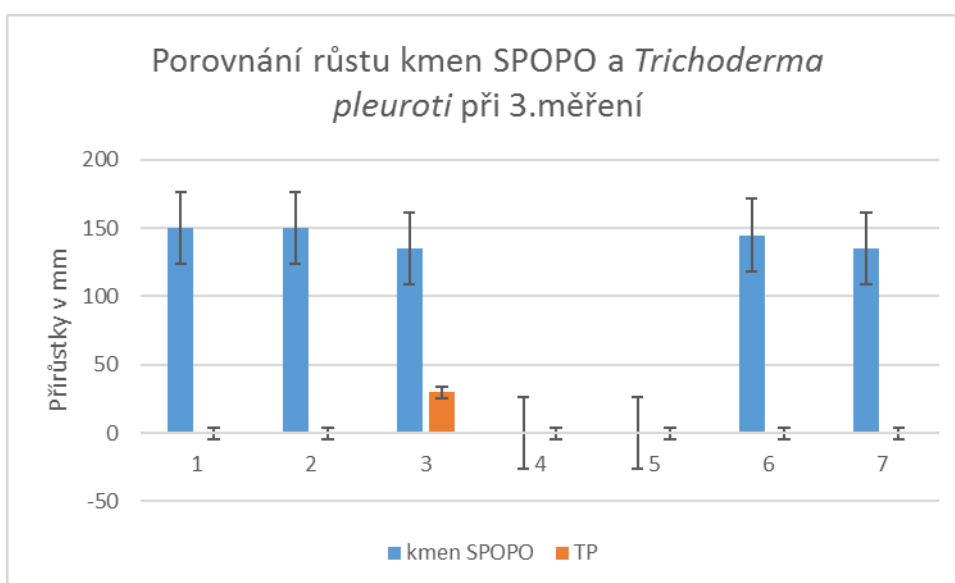


Graf č. 1. Porovnání hodnot vlhkosti substrátu před ošetřením a po ošetření sterilizací.

Teploty v termostatu při kontrolách jednotlivých měřeních se mírně zvyšovaly, jak ukazuje graf č. 2. Rozmezí hodnot 23 °C při založení pokusu a pohybovaly se do nejvyšší naměřené hodnoty 25, 2 °C.



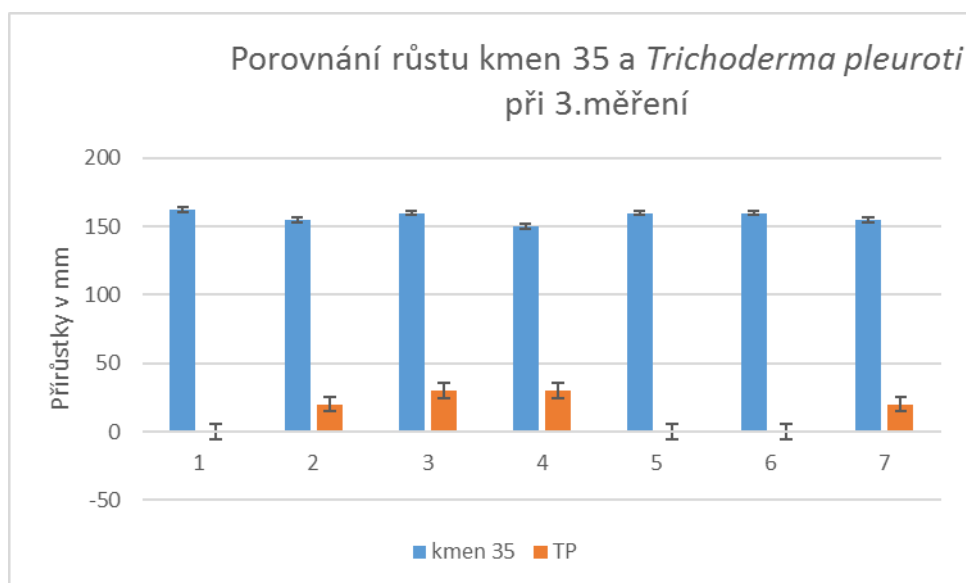
Graf č. 2. Kontrolní teploty v termostatu při termínech měření. Vlhkost byla 60 % po celou dobu pokusu.



Graf č. 3. Přírůstky *Pleurotus ostreatus* kmen SPOPO a *Trichoderma pleuroti* (TP) při 3 měření tj. 11 den po zaočkování. Hodnoty přírůstků jsou uváděny v mm.

Hlíva ústříčná měla měřitelné přírůstky, avšak *Trichoderma pleuroti* rostla s přírůstky minimálními, nebo neměla přírůstky žádné. V této variantě u kmene SPOPO a *Trichoderma pleuroti* došlo ve 4 a 5 rukávu ke kontaminaci substrátu, proto jsou zde nulové hodnoty. Hlíva ústříčná měla nejlepší přírůstky ve variantě č. 1,2, kde nemá *Trichoderma pleuroti* přírůstky

žádné. Ve variantě 3 má *Trichoderma pleuroti* měřitelný růst a je zde i patrný snížený růst hlívy ústříčné. Růstu SPOPO není negativně ovlivněn.



Graf č. 4. Přírůstky *Pleurotus ostreatus* kmen 35 a *Trichoderma pleuroti* (TP) při 3 měření tj. 11 den po zaočkování. Hodnoty přírůstků jsou uváděny v mm.

Hlíva ústříčná prorůstala velice dobře celé rukávy a přírůstky dosáhly téměř stejných hodnot ve všech variantách. *Trichoderma pleuroti* začala prorůstat až v 2 a 3 měření, v prvním měření byly přírůstky nulových hodnotách. Růst *Trichoderma pleuroti* neměl vliv na přírůstky hlívy ústříčné.

Z růstu obou kultur lze vyvodit jejich vzájemný vztah. Pokud je v substrátu aktivní růst hlívy ústříčné je aktivní i růst *Trichoderma pleuroti*. Samostatně *Trichoderma pleuroti* nezaznamenala v růstu žádné, nebo minimální přírůstky. Naopak hlíva ústříčná rostla velmi dobře. PE – HD rukávy s oběma kulturami po posledním měření byly ponechány k dalšímu pozorování. *Trichoderma pleuroti* při kontrolách 11.8.2016 ani 24.8.2016 nevykazovala žádný další růst, naopak mycelium hlívy ústříčné prorostlo celé rukávy.

## 5.4. Vliv vlhkosti substrátu na růst hlívy ústříčné a *Trichoderma pleuroti*

### Kontrola vlhkosti substrátu

Kontrola vlhkosti substrátu byla provedena v každé variantě dvěma kontrolními vzorky.

Při vlhkosti 65 % byla skutečná vlhkost vzorků 61,94 % a 64,85 %.

Při vlhkosti 67 % byla skutečná vlhkost vzorků 68,33 % a 67,45 %.

Při vlhkosti 69 % byla skutečná vlhkost vzorků 70,37 % a 67,91 %.

Při vlhkosti 71 % byla skutečná vlhkost vzorků 70,86 % a 70,01 %.

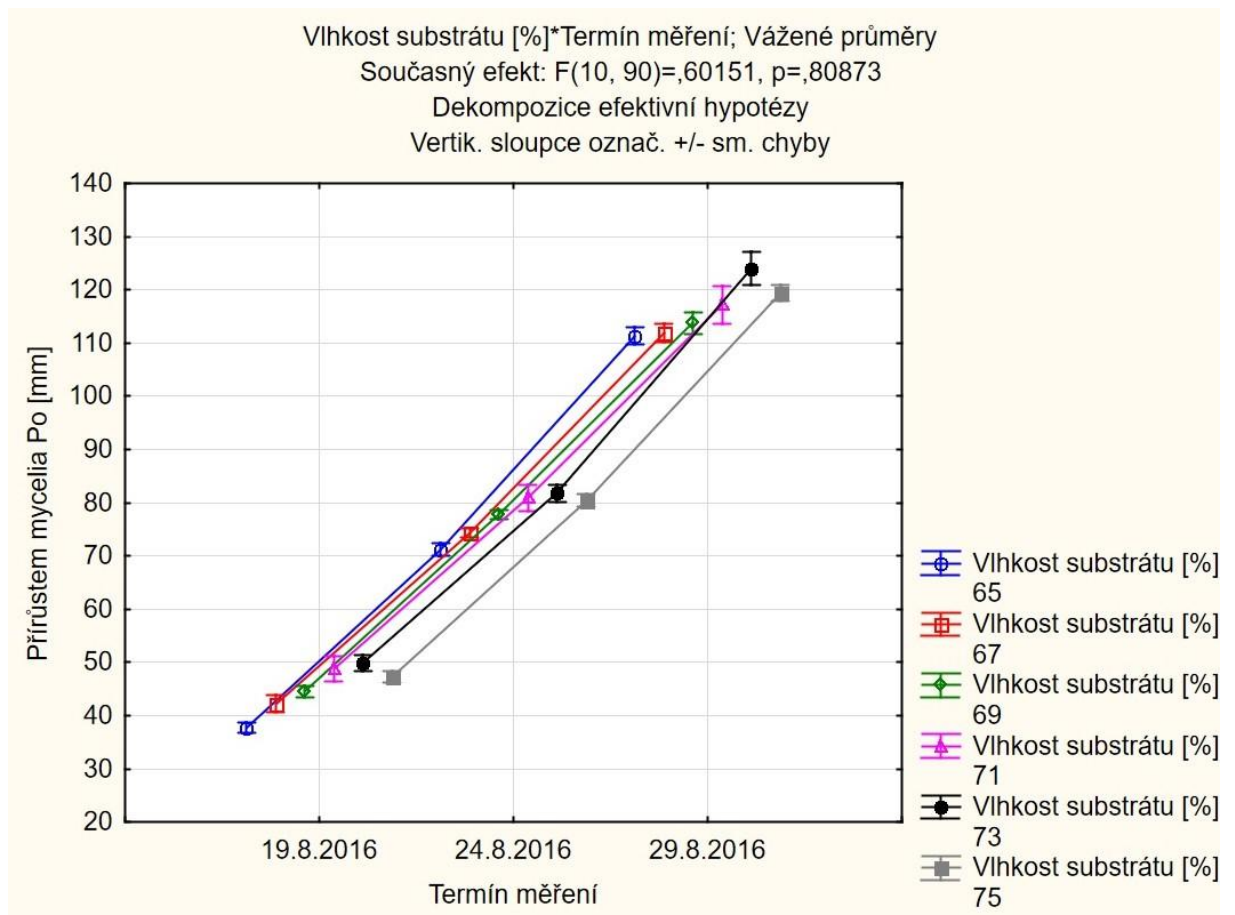
Při vlhkosti 73 % byla skutečná vlhkost vzorků 72,66 % a 71,72 %.

Při vlhkosti 75 % byla skutečná vlhkost vzorků 74,55 % a 74,95 %.

Kontrolní vzorky vlhkosti byly srovnatelné ve variantě 75 %. Naopak největší rozdíl byl u kontrolních vzorků vlhkosti 65 %.

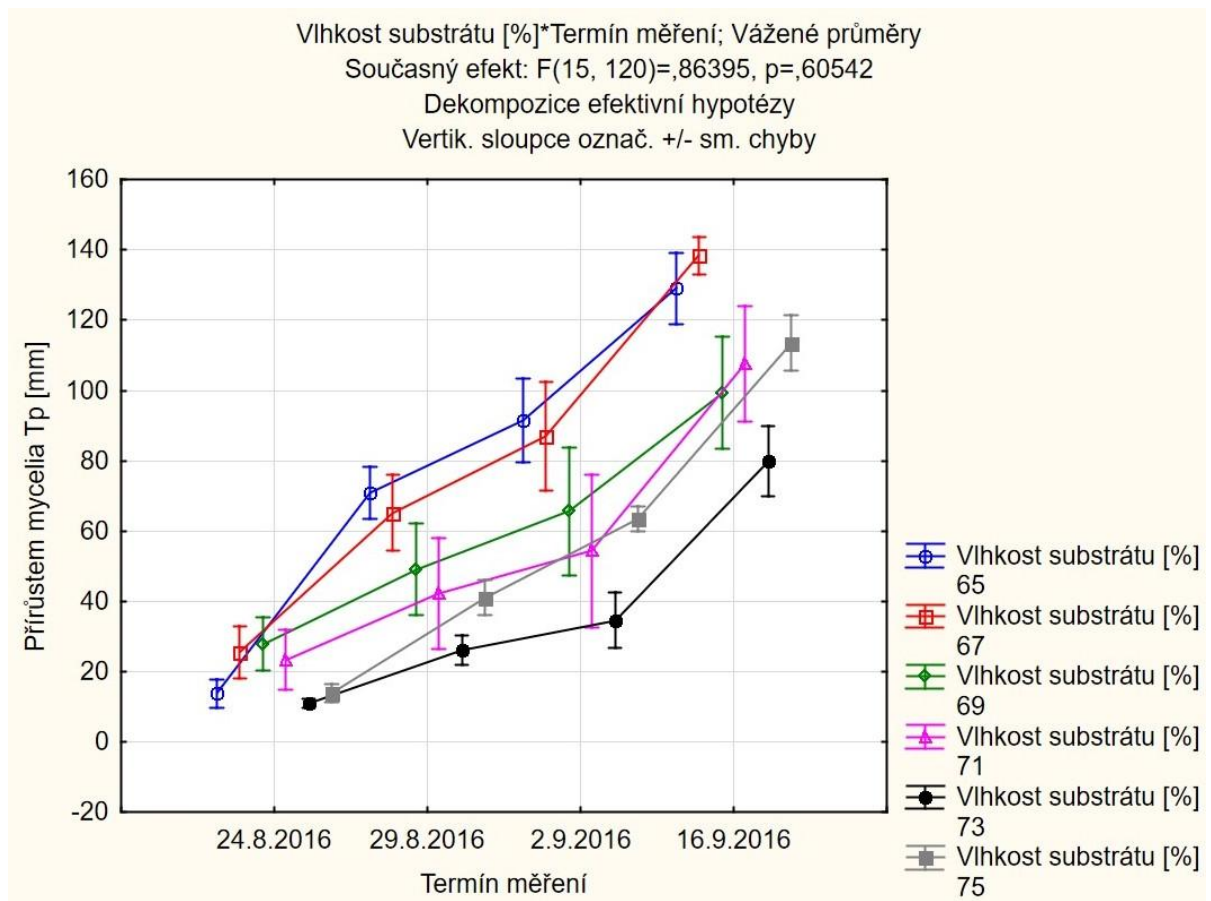
PE-HD rukávy naočkované po 3 kusech *Trichoderma pleuroti* od každé varianty vlhkosti nevykazovaly žádný přírůstek.





Graf: č. 5. Průměrné přírůstky mycelia *Pleurotus ostreatus* v závislosti na termínu měření.

V hodnocení růstu při vlhkostech substrátu 65 %, 67 %, 69 %, 71 %, 73% a 75 % lze říci, že hlíva ústříčná měla rovnoměrný lineární průběh růstu. Ovšem při 65 % až 69 % vlhkosti byly nejhorší hodnoty v přírůstcích mycelia a zároveň i nejpomalejší růst. Naopak nejlépe rostla a statisticky významný růst zaznamenala při 73 % vlhkosti substrátu. Z hlediska naměřených hodnot byla vlhkost substrátu 73 % pro růst mycelia hlívy ústříčné nejlepší, což jasně ukazuje metrický zápis v grafu č. 5.

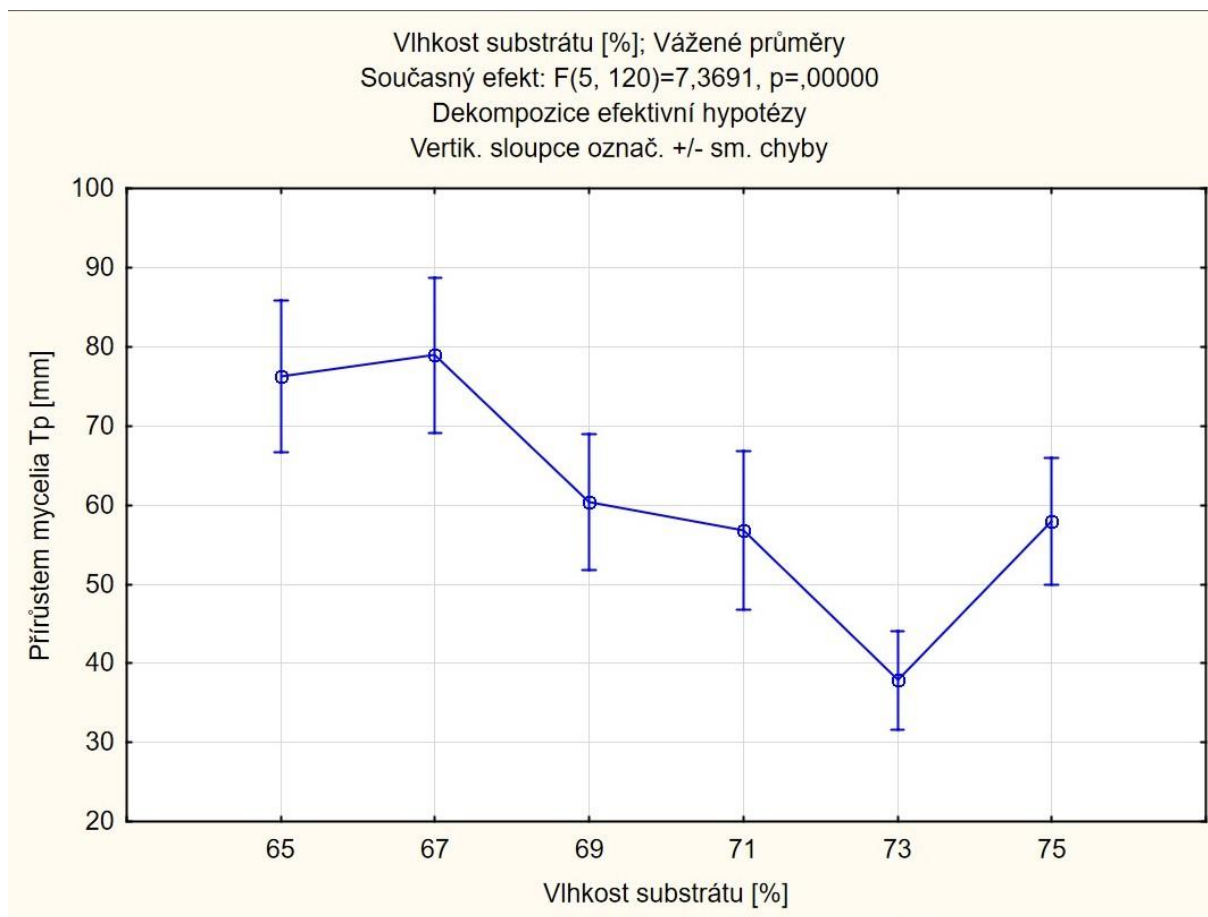


Graf: č. 6. Průměrné přírůstky mycelia *Trichoderma pleuroti* v závislosti na termínu měření.

V hodnocení růstu při vlhkostech substrátu 65 %, 67 %, 69 %, 71 %, 73 % a 75 % lze říci, že *Trichoderma pleuroti* měla oproti hlívě ústříčné opožděný nástup růstu o 5 dní. Byla u ní provedena 4 měření, jelikož substrát prorůstala pomaleji.

Z č. 6. grafu vyplývá, její vyrovnaný růst při vlhkostech 65 % a 67%. Hodnota 73 % je pro růst *Trichoderma pleuroti* nejméně vhodná.

Ve všech variantách se projevil vliv vlhkosti substrátu na růst *Trichoderma pleuroti*, ale v žádné se neprojevil statisticky významný rozdíl.



Graf č. 7. Porovnání průměrných přírůstků mycelia *Trichoderma pleuroti* v závislosti na vlhkosti substrátu.

Porovnání přírůstků *Trichoderma pleuroti* v závislosti na vlhkosti substrátu ukazuje graf č. 7. Průměry přírůstků jsou největší při vlhkosti 65 % a 67 %. Rychlost růstu i velikost přírůstků při hodnotě 73 % *Trichoderma pleuroti* je negativně ovlivněn vlhkostí substrátu. V tomto pokusu byl zaznamenán výrazný rozptyl.

Z porovnání výsledků v tomto pokusu lze konstatovat, že růst mycelia hlívy ústříčné je nejlepší a nejrychlejší při vlhkosti substrátu 73 %. *Trichoderma pleuroti* rostla nejlépe při vlhkosti 67 %.

Dále je patrné, že růst hlívy ústříčné je významný z hlediska růstu při hodnotě 73 %, ale naopak *Trichoderma pleuroti* při vlhkosti 73 % měla přírůstky nejmenší.

## 6. Diskuze

K ošetření substrátu byla použita sterilizace, při níž se zničí jak vegetativní, tak i klidová stadia konkurenčních hub, a to ve všech částech substrátu, jak uvádí Jablonský a Šašek (2006). Wiesnerová (2016) uvádí, že při delším teplotním ošetření mohou být postiženy i organismy (bakterie) příznivé pro růst hlívy ústříčné. Ve sterilní slámě by měl být růst *Trichoderma pleuroti* agresivní, ovšem moje výsledky toto tvrzení nepotvrdily.

V pokusech *Trichoderma pleuroti* nevykazovala žádné přírůstky, nebo velmi malé. Nedostatečný a pomalý růst *Trichoderma pleuroti* na peletách z pšeničné slámy uvádí i Novotný (2015) ve své odborné zprávě. Také zmiňuje fakt, že pšeničné pelety nejsou vhodným materiálem pro kultivaci této houby. Pelety mají při spaření vodou jemnější a hustší konzistenci oproti nařezané slámě. Při větší, nebo nesterjnoměrné vlhkosti substrátu dojde k místnímu přemokření a tím i pro růst mycelia k nepříznivým podmínkám, které mohou mít za následek omezený přístup vzduchu. V případě, že je zvolen vhodný poměr vody, jsou pro růst vhodné. Záleží i na dalších faktorech, jako je např. kvalita slámy, z které jsou vyrobeny, její chemické složení atd.

Jablonský a Šašek (2006) uvádějí, že mycelium všech druhů hlív dosahuje maximálního růstu při teplotě 28°C, naopak při teplotě 20°C je růst zpomalený. Zadrobilová (2012) zkoumala *Trichoderma pleuroti* v závislosti na vhodné teplotě pro její růst. *Trichoderma pleuroti* byla kultivována v rozmezí teplot 20 - 30°C, ale nejlepší přírůstky byly dosaženy při teplotě 30 °C. Při pokusech byla teplota mezi 20 – 25 °C, což odpovídá hodnotám příznivým pro růst obou kultur, přesto se v pokusech neprojevovaly předpokládaným růstem.

Jelikož kultury, které byly očkované z agarového media v Petriho miskách, v prvních pokusech nerostly, byla následně použita k očkování zrnitá sadba. Zrnitou sadbou se v požadovaném místě docílí inokulování větším množstvím mycelia při očkování substrátu.

Zadrobilová (2012) v bakalářské práci provedla podobný pokus s peletami plněnými do PE -HD rukávů, navlhčené pelety byly sterilizovány a k inokulaci byly použité kultury na sladínovém agaru, v jedné variantě zaočkované současně. Obě kultury rostly a uvádí, že vzhledem k tomu, že pokusy probíhaly v PE - HD rukávech s malým přístupem vzduchu přes molitanové zátky mohlo dojít k odlišným podmínkám pro růst obou kultur, než jaké jsou při pěstování v polyetylenových pytlích ve výrobních provozech. Ve variantě zaočkování kultur současně, se kolonie hub vzájemně prorůstaly a ani jedna z nich nebyla dominantní. Z výsledků pokusů v této práci vyplývá stejné zjištění, i když *Trichoderma pleuroti* vykazovala

velmi malé přírůstky, obě kultury se prorůstaly a žádná z nich nebyla dominantní a nebyl u nich patrný antagonistický vztah, jak uvádí Komoň - Zelazowska et al. (2007).

Berovic et al. (2012) uvádí při pěstování *Ganoderma lucidum* (Lesklokorka lesklá) optimální vlhkost substrátu od 80 do 74 %. Pokud ovšem klesne vlhkost substrátu pod 57 % je růst mycelia zastaven. Vhodná vlhkost substrátu pro pěstování hlívy ústříčné je udávána v rozmezí 69 – 70 %. Novotný (2016) uvádí optimální vlhkost namočené slámy pro pěstování kultur hlívy 70-75 %. Siwulski et al. (2007) porovnával dva kmeny hlívy ústříčné HK - 35 a K - 22. Substrát byl ošetřen pasterizací při teplotě 95° C po dobu 5 hodin. Po ošetření byla přidána voda do požadovaných vlhkostí 60, 65, 70, 75 a 80 %. Bylo zjištěno, že největší výnos plodnic byl při vlhkosti substrátu 75 %. V pokusu, který jsem provedla v této práci byl také použit kmen hlívy ústříčné HK – 35, ale vlhkosti substrátu měly užší rozptyl hodnot 65 %, 67 %, 69 %, 71 %, 73 % a 75 %. Lepší růst mycelia hlívy ústříčné vykazovaly substráty při vlhkosti 71 % – 75 %. Ovšem nejlepší růst mycelia a statisticky významný byl při vlhkosti 73 % oproti hodnotě 75 % vlhkosti. Porovnáním těchto hodnot lze konstatovat, že mycelium hlívy ústříčné roste velmi dobře při vlhkosti substrátu 75 %, ale pokud se vlhkost substrátu upraví na 73 % jsou dosaženy ještě lepší podmínky pro prorůstání mycelia substrátem. Růst hlívy ústříčné byl nejlepší z hlediska vyrovnanosti a rychlosti při 73 % vlhkosti, naopak při této vlhkosti vykazovala nejhorší růst *Trichoderma pleuroti*. Byl u ní také patrný pomalejší nástup růstu. Při porovnání s růstem hlívy ústříčné bylo zpoždění v prorůstání mycelia 5denní.

Zadrobilová (2015) zjišťovala interakci kmenů hlívy ústříčné a *Trichoderma pleuroti* v *in vitro* podmínkách. Uvádí, že při současném zaočkování obou kultur vždy *Trichoderma pleuroti* přeroste ve všech zkoumaných případech kolonie hlívy ústříčné. Lze konstatovat, že v případě mého pokusu realizovaného na substrátu z pšeničných pelet se toto tvrzení nepotvrdilo a můžeme se domnívat, že v podmínkách pěstíren je vztah vzájemného růstu mezi oběma organismy složitější, v závislosti na vnějších podmínkách prostředí.

Při prorůstání substrátu byly jasně patrné a viditelné přírůstky při měřeních na povrchu substrátu, které byly zakresleny na sklenice. Ovšem při dalším měření byly sice zakreslené, ale *Trichoderma pleuroti* již nebyla jasně viditelná lidským okem na povrchu substrátu. Toto zjištění dokazuje, že *Trichoderma pleuroti* je v substrátu obsažena, ale nemusí být rozpoznána a viděna lidským okem. Tato strategie dělá z *Trichoderma pleuroti* velmi těžkého soupeře, protože pokud není vidět nelze ji rozpoznat jinak než odebráním vzorků a kultivací. V případě, že není odhalena včas, negativně ovlivňuje tvorbu plodnic hlívy ústříčné v pěstírnách. To má za následek snížení výnosů a zároveň riziko možné likvidace celé pěstované kultury.

## 7. Závěr

Předložená práce se měla zabývat vztahem různých kmenů *Pleurotus ostreatus* vůči *Trichoderma pleuroti*. Jelikož nedošlo v pokusech k dostatečnému růstu obou kultur hub, nebylo možné dostatečně vyhodnotit a posoudit jejich vzájemný růst. Z pokusů lze pouze potvrdit vzájemný vztah obou druhů hub. Růst mycelia *Pleurotus ostreatus* má vliv na růst *Trichoderma pleuroti*.

*Trichoderma pleuroti* i *Pleurotus ostreatus* byly testovány na schopnost růstu v různých vlhkostech substrátu. Bylo zjištěno, že mycelium *Pleurotus ostreatus* roste nejlépe při vlhkosti 73 %, naopak *Trichoderma pleuroti* roste nejhůře při této vlhkosti.

## 8. Literární zdroje

Antonín, Vladimír, 2006. Encyklopedie hub a lišejníků. Academia. Praha. 472 s. ISBN: 80 - 200 - 1476 - 4.

Ginterová, Anastázia, 1992. Pestujeme huby: Šampióny, hlivy, uchovce, peniazivky, šupinačky, húževnatce, golierovky, rôsolovce, čírovky. Příroda. Bratislava. 208 s. ISBN: 80 - 07 - 00517 - X.

Gupta, Vijai K., Schmoll Monika, Herrera - Estrella Alfredo, Upadhyay R. S., Druzhinina Irina, Touhy Maria G. 2014. Biotechnology and biology of *Trichoderma*. Elsevier. Boston. 650 s. ISBN: 0444595767.

Holec, Jan, Antonín Bielich a Miroslav Beran. 2012. Přehled hub střední Evropy. Academia. Praha. 622 s. ISBN 978 - 80 - 200 - 2077 - 2.

Jablonský, Ivan a Šašek Václav. 2006. Jedlé a léčivé houby: pěstování a využití. Brázda. Praha. 264 s. ISBN 80 - 209 - 0341 - 0.

Klán, Jaroslav, 1999. Houby. Ilustroval Bohumil Vančura. Aventinum. Praha. 223 s. ISBN 80 - 7151 - 068 - 8.

Kalina, Tomáš a Jiří Váňa. 2005. Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Karolinum. Praha. 606 s. ISBN 80 - 246 - 1036 - 1.

Lepšová, Anna, 2001. Zázračná houba? Hlíva ústříčná: jak žije, co umí, co nám nabízí, jak s ní nakládat + recepty pro zdravou výživu. Víkend. Praha. 63 s. ISBN 80 - 7222 - 181 - 7.

Lepšová, Anna, 2005. Houby jako elixír života: hlíva ústříčná (nové poznatky), houževnatec jedlý, penízovka sametonohá, kukmák sklepní a další. Víkend. Praha. 84 s. ISBN 80 - 7222 - 369 - 0.

Novák, Jan a Milan Skalický, 2008. Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika. Powerprint. Praha. 327 s. ISBN 978 - 80 - 904011 - 1 - 2.

Pilát, Albert, 1935. Atlas hub evropských, díl II., *Pleurotus* Fr. - hlíva. Administrace. Praha.  
192 s. na vlastní náklady.



## Články:

Berovic, M, Habijanac J., Boh B., Wraber B., Petravic-Tominac, V. 2012. Production of Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (W.Curt: Fr.) P. Karst. (Higher Basidiomycetes), Biomass and Polysaccharides by Solid State Cultivation. *International journal of medicinal mushrooms*. 14(5), p. 513-520.

Bissett J., Gams W., Jaklitsch W., and Samuels J. G. 2015. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *Ima fungus* 6 (2). 263 - 295.

Hrouda P. 1999. *Pleurotus* – Klíč a taxonomické poznámky. *Mykologické listy*. 68, 1 - 6.

Hatvani, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Druzhinina, I. S., Kubicek, C. P., Nagy, A., Nagy, E., Vágvölgyi, C., and Kredics, L. 2007. Green mold diseases of *Agaricus* and *Pleurotus* spp. are caused by related but phylogenetically different *Trichoderma* species. *Phytopathology*. 97. 532 - 537.

Chaverri P. and Samuels J. G. 2002. *Hypocrea lixii*, the teleomorph of *Trichoderma harzianum*. *Mycological Progress* 1 (3). 283 - 286.

Jablonský I. a Novotný D. 2015. Podmínky v substrátu hlívy ústříčné ve vztahu k výskytu houby *Trichoderma pleuroti*. *Mykologické listy*. 132, 41 - 49.

Kubátová A., Kovařík M. a Jablonský I. 2009. *Trichoderma aggressivum*, první nález v České republice. *Mykologické listy*. 109, 18 - 24.

Komoń - Zelazowska M., Bissett J., Zafari D., Hatvani L., Maanczinger L, Woo S., Lorito M., Kredics L., Kubicek C. P. Ch., and Druzhinina I. S.. 2007. Genetically closely related but phenotypically divergent *Trichoderma* species cause green mold disease in oyster mushroom farms worldwide. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(22). 7415–7426.

Park M. S., Bae K. S. and Yu s. H.. 2006. Two New Species of *Trichoderma* Associated with Green Mold of Oyster Mushroom Cultivation in Korea. *Mycobiology*. 34 (3). 111 - 113.

Schuster A. and Scholl M. 2010. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl Microbiol Biotechnol* 87. 787–799. [online] # The Author (s) 2010.

This article is published with open access at Springerlink.com

Siwulski M., Sobieralski L., Błaszczak B., Fraszczak B., Frużyńska - Józwiak D., Sas - Golak I. 2011. Mycelium growth of several *Trichoderma pleurotum* and *T. pleuroticola* isolates and their biotic interaction with *Pleurotus florida*. *Phytopathologia* 59. 43 - 48.

Siwulski, M., Sobieralski, K., Miran, D. 2007. The effect of moisture of the substrate on yielding of two oyster mushroom strains / Wpływ wilgotności podłoża na plonowanie dwóch odmian bocznika. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu*. 41 (383). 615 – 618.

Sobieralski K., Siwulski M., Komon - Żelazowska M., Błaszczak L., Górski R., Spizewski T., Sas – Golak, I. 2012. Evaluation of the growth of *Trichoderma pleurotum* and *Trichoderma pleuroticola* isolates and their biotic interaction with *Pleurotus* sp. *Journal of plant protection research* vol. 52 (2). 235 - 239.

Staněk, M., Bisko N. A. 1982. Regulace mikrobiologických procesů v substrátech pro pěstování houby hlívy ústříčné (*Pleurotus osteratus*). *Sborník VÚTIZ – Zahradnictví* 9 (3). 221 - 233.

### **Diplomové a bakalářské práce:**

Zadrobilová, L. 2012. Bakalářská práce. Vliv podmínek prostředí na růst kompetiční houby *Trichoderma pleurotum*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 60 s.

Zadrobilová, L. 2015. Diplomová práce. Vztah mikroorganismů v substrátu k myceliu hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*) a konkurenční houbě *Trichoderma pleurotum*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 88 s.

Wiesnerová, L. 2016. Diplomová práce. Vliv podmínek prostředí na vztah kultury hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*), *Trichoderma pleuroti* a mikrobiota v substrátu. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 70 s.

### **Internetové zdroje:**

Červený seznam hub (makromycetů) [citace 2016 - 07 - 23]

Holec J. et al. 2006. Červený seznam hub (makromycetů) České republiky. *Příroda*. 2006, 24: 1 - 282.

dostupné z:

[http://portal.nature.cz/publik\\_syst/ctihtmlpage.php?what=1264&X=X](http://portal.nature.cz/publik_syst/ctihtmlpage.php?what=1264&X=X)

Mycelium for professional [citace 2016 - 08 - 09]

Pleurotus salmoneo - stramineus

dostupné z:

<http://www.mycelia.be/en/strain-list/m-2708-pleurotus-salmoneostramineus>

Mycobank

dostupné z: <http://www.mycobank.org/>

Pěstování hub v ČR. [online] květen 2013 [citace 2016 - 07 - 31]

dostupné z:

<http://www.hlivaustrična.com/index.php/vse-kolem-hlivy/pstovani-hub-v-r>

## Studie:

Jablonský I. Restrukturace oboru pěstování hub v souvislosti se vznikem nových pracovních míst. [online] prosinec 2004 [citace 2016 - 07 - 30]

Dostupné z:

[http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/databaze/pdf/Restrukturace\\_oboru\\_pestovani.pdf](http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/databaze/pdf/Restrukturace_oboru_pestovani.pdf)

Britt M., Gianotti, Matthew P. Cleaver, Phillip D. Cleaver, Cody Bailey and John C. Holliday. 2009. Diversified Agriculture Part 1: Simplified and Lower Cost Methods for Mushroom Cultivation in Africa. Aloha Medicinals Inc 2300 Arrowhead Dr, Carson City, NV 89706

dostupné z: <http://www.alohaecowas.com/diversified-agriculture-part1.html>

Novotný D. 2015. Odborná zpráva o postupu prací a dosažených výsledcích za rok 2015. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. . Číslo projektu: TA03020356. Název projektu: Vývoj substrátu pro pěstování hlívy s ohledem na ochranu před škodlivými houbami z rodu *Trichoderma*. 1-27.

Novotný D. 2016. Odborná zpráva o postupu prací a dosažených výsledcích za rok 2015. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. . Číslo projektu: TA03020356. Název projektu: Vývoj substrátu pro pěstování hlívy s ohledem na ochranu před škodlivými houbami z rodu *Trichoderma*. 1-15.

**Zákony:**

Vyhláška č. 291/2010 Sb. vyhláška, kterou se mění vyhláška č.157/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování, ve znění vyhlášky č. 650/2004 Sb.

dostupné z: [http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni - predpisy - mze/tematicky - prehled/Legislativa - MZe uplna - zneni vyhlaska - 2010 - 291 - novela - 157 - 2003.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni_-_predpisy_-_mze/tematicky_-_prehled/Legislativa_-_MZe_uplna_-_zneni_vyhlasaka_-_2010_-_291_-_novela_-_157_-_2003.html)

## 9. Přílohy

### Hodnocení kolonií hlívy ústříčné v přítomnosti *Trichoderma pleuroti*

Varianta	číslo	Průměr		Průměr		Průměr	
		hlíva ústříčná	TP	hlíva ústříčná	TP	Hlíva ústříčná	TP
		1.měření	1.měření	2.měření	2.měření	3.měření	3.měření
		Po 5 dnech	Po 5 dnech	Po 7 dnech	Po 7 dnech	Po 11 dnech	Po 11 dnech
35 kont.	1.	72,5		105	105	155	
35 kont.	2.	82,5		112,5		157,5	
35 kont.	3.	80		112,5		165	
35 kont.	4.	75		105		150	
35 kont.	5.	90		115		157,5	
35 kont.	6.	79		K		K	
35 kont.	7.	80		115		152,5	
SPOPO kont.	1.	75		107,5		165	
SPOPO kont.	2.	77,5		107,5		165	
SPOPO kont.	3.	77,5		102,5		153	
SPOPO kont.	4.	70		102,5		147,5	
SPOPO kont.	5.	76		110		145	
SPOPO kont.	6.	81		110		160	
SPOPO kont.	7.	82,5		105		150	
TP kont.	1.		0		0		30
TP kont.	2.		0		0		40
TP kont.	3.		10		30		30
TP kont.	4.		0		0		40
TP kont.	5.		0		0		K
TP kont.	6.		0		K		K
TP kont.	7.		0		K		K
35+ TP	1.	95	0	117,5	0	162,5	0
35+ TP	2.	85	0	115	20	155	20
35+ TP	3.	85	0	115	20	160	30
35+ TP	4.	75	0	105	20	150	30
35+ TP	5.	85	0	115	0	160	0
35+ TP	6.	77,5	0	107,5	0	160	0
35+ TP	7.	77,5	0	110	10	155	20
SPOPO+TP	1.	80	0	107,5	0	150	0
SPOPO+TP	2.	75	0	107,5	0	150	0
SPOPO+TP	3.	67,5	0	92,5	30	135	30
SPOPO+TP	4.	80	0	K	K	0	0
SPOPO+TP	5.	K	K	K	K	0	0
SPOPO+TP	6.	82,5	0	110	0	145	0
SPOPO+TP	7.	78	0	110	0	135	0

Tabulka č. 1. Průměrné přírůstky PE - HD rukávech.

Vysvětlivky:

K - kontaminace substrátu

TP - *Trichoderma pleuroti*



Foto č. 1. PE- HD rukávy při druhém měření hlíva ústříčná kmen SPOPO a *Trichoderma pleuroti* uprostřed.



Foto č. 2. PE – HD rukáv při druhém měření hlíva ústříčná kmen 35 a *Trichoderma pleuroti* uprostřed.



## Vliv vlhkosti substrátu na růst hlívy ústříčné a *Trichoderma pleuroti*

Vlhkost v %	Číslo sklenice	1. měření	2. měření	3. měření
		za 8 dní	za 13 dní	za 18 dní
65	1.	36,25	66,25	111,25
65	2.	38	74,25	111,25
65	3.	36	69,5	106
65	4.	38,75	73,5	115,25
65	5.	35,5	70,5	108,25
65	6.	41,75	73	116,25
67	1.	47,5	78,75	118,75
67	2.	40,5	73,25	107
67	3.	40	73,25	110
67	4.	38,5	73	110,5
67	5.	40	73,75	114,5
67	6.	46,75	73,75	110,5
69	1.	45,75	80	116,5
69	2.	44,75	80,5	121,75
69	3.	49,25	78	115,5
69	4.	41,25	75,75	108,75
69	5.	42,75	75,25	109,25
69	6.	43,25	77	111,25
71	1.	49,5	81,5	116
71	2.	58,25	89,25	129,25
71	3.	45	76,25	110,75
71	4.	47,25	80,5	116,25
71	5.	51,75	85,5	124,5
71	6.	41,25	72,5	106,25
73	1.	55	87,5	136,25
73	2.	46,25	78,25	117
73	3.	50	83	127,5
73	4.	45,5	76,25	116
73	5.	51,25	83,75	125,5
73	6.	51,25	82	121,75
75	1.	48,75	80	118,25
75	2.	47,5	81,5	121,75
75	3.	43,75	75,75	114,25
75	4.	46,25	80	119,25
75	5.	51,25	84,25	125,5
75	6.	46,25	81,25	117,5

Tabulka č. 2. Průměry přírůstků hlívy ústříčné kmen HK 35 při vlhkostech substrátu 65 %, 67 %, 69 %, 71 %, 73 % a 75 %.



Foto č. 3. Porovnání přírůstků hlívy ústříčné při vlhkosti 65 a 75 %.



Foto č. 4. Porovnání růstu mycelia hlívy ústříčné při vlhkosti 67 a 73 %.



Foto č. 5. Porovnání růstu mycelia hlívy ústříčné při vlhkosti 73 a 75 %.

Vlhkost v %	Číslo sklenice	1. měření	2. měření	3. měření	4. měření
		Za 13 dní	Za 18 dní	Za 22 dní	Za 34 dní
65	1.	8,75	83,25	127,5	145
65	2.	18,75	90	113,75	145
65	3.	18,75	71,25	91	145
65	4.	27,5	78,75	90,75	137,5
65	5.	8,75	63,75	82,25	117,75
65	6.	0	38,75	43	83,75
67	1.	53,75	92	124,5	145
67	2.	31,25	76,25	110,5	145
67	3.	7,5	22,5	27,5	137,5
67	4.	10	45	57,5	112,5
67	5.	12,5	87,5	114,25	145
67	6.	37,5	68	87,5	145
69	1.	15	20	27,5	68,75
69	2.	32,5	71,25	110,25	141,25
69	3.	0	3,75	3,75	46,25
69	4.	31,75	54,5	65,75	100
69	5.	33,25	56,25	69,25	94,25
69	6.	54,25	88,75	116,75	145
71	1.	8	12,5	12,5	101,25
71	2.	3,75	3,75	3,75	58,75
71	3.	36,75	67,5	88,75	145
71	4.	23,75	62,5	78,5	133,75
71	5.	57,5	97,5	132,5	145
71	6.	10	10	10	61,25
73	1.	13	23,75	23,75	80,5
73	2.	15	36,25	36,25	65
73	3.	6,25	13,75	16,25	92,5
73	4.	11,25	15	16,25	45
73	5.	12,5	32,5	61,25	78,75
73	6.	7,5	35	53,75	117,5
75	1.	13,75	42,5	65	112,5
75	2.	11,25	23,75	64,5	96,75
75	3.	7,5	45	66,25	136,25
75	4.	25	60	76,25	138,75
75	5.	15	33,75	57,5	95
75	6.	10	41,25	50,5	101,75

Tabulka č. 3. Průměry přírůstků *Trichoderma pleuroti* při vlhkostech substrátu 65 %, 67 %, 69 %, 71 %, 73 % a 75 %.



Foto č. 6. Porovnání růstu *Trichoderma pleuroti* při vlhkosti 65 a 67 %.



Foto č. 7. Prorůstání *Trichoderma pleuroti* při vlhkosti substrátu 67 %