

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zahradnictví



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Studium příjmu selenu a zinku podhoubím korálovce
ježatého (*Hericiium erinaceus*) a jejich hromadění v
plodnicích na substrátech o různém složení**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Miroslav Jozífek

Obor studia: Výživa a ochrana rostlin

Vedoucí práce: Ing. Ivan Jablonský, CSc.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Studium příjmu selenu a zinku podhoubím korálovce ježatého (*Hericiium erinaceus*) a jejich hromadění v plodnicích na substrátech o různém složení" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4.2023

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval panu Ing. Ivanu Jablonskému, CSc. za odborné vedení mé diplomové práce a věcné připomínky a nápady při provádění pokusů. Dále pak panu Ing. Lukášovi Prausovi, PhD. za analýzu vzorků plodnic a konzultace a panu doc. Ing. Bc. Martinu Koudelovi, Ph.D. za cenné rady při zpracování výsledků.

Studium příjmu selenu a zinku podhoubím korálovce ježatého (*Hericiium erinaceus*) a jejich hromadění v plodnicích na substrátech o různém složení

Souhrn

V této diplomové práci byl hodnocen vliv přídatku selenu (ve formě Na_2SeO_3) a zinku (ve formě ZnSO_4) na růstové parametry a výsledný obsah selenu a zinku v plodnicích čtyř kmenů korálovce ježatého (*Hericiium erinaceus*), z čehož byly dva divoké a dva komerční. Do substrátu složeného z pilin dubu a buku s přídatkem pšeničných otrub a sádry byl doplněn selen (2, 6 a 18 mg/kg) a zinek (10, 20 a 40 mg/kg) a substrát následně propařen a naočkován. V průběhu pěstování byly sklizeny dvě až tři sklizňové vlny. Nejvyšší obsah selenu v plodnicích byl naměřen ve variantách s přídatkem selenu 18 mg/kg vlhkého substrátu, konkrétně kmene KZ 111 (217,45 $\mu\text{g/g}$). Zároveň byla nalezena silná závislost mezi přidáním selenem a výsledným obsahem selenu v plodnicích. Bylo prokázáno, že přídatek Na_2SeO_3 mírně zvyšuje biologickou efektivitu (BE) plodnic, kdy statisticky průkazné navýšení bylo u kmene KZ 120 varianty 2 mg/kg. Na ranost přídatku výrazný vliv neměl. Byla sledována změna barvy plodnic a mycelií, kdy s přídatkem selenu bylo dosaženo intenzivního růžového zabarvení. Nejvyšší efektivita využití selenu (3,38-13,01 %) byla stanovena u varianty přídatku selenu 6 mg/kg.

U zinku bylo v sušině také stanoveno vyšší množství oproti kontrole, ale jen u kmene KZ 120 a KZ 91 byla nalezena silná závislost mezi přidáním zinkem do substrátu a výsledným zinkem v plodnicích. Nejvíce zinku akumuloval kmen KZ 120 (125,22 $\mu\text{g/g}$), který měl zároveň nejvyšší výnosy. Substráty s přídatkem zinku dosahovaly nižší BE oproti kontrole, kdy s nejvyšší koncentrací (40 mg/kg) byl zaznamenán výrazný pokles. Nejmenší BE měl kmen KZ 111 (17,21 %). Zvýšené dávky zinku zásadně prodlužovaly dobu fruktifikace s výjimkou kmene KZ 91. Nejvyšší efektivita využití zinku v první vlně (3,73-6,5 %) byla stanovena u varianty s přídatkem zinku 10 mg/kg.

Zkoumán byl také vliv přídatku v podobě pšeničných otrub (O), mláta (S), řepkových pokrutin (RP), řepných řízků (RR) a sójových slupek (SS) na výnos a celkový obsah selenu při fortifikaci 6 mg/kg, kdy nejvyšší BE jednoznačně měl přídatek sójových slupek (88,83 %) a nejvíce selenu varianta s přídatkem otrub (69,89 $\mu\text{g/g}$). Substrát s přídatkem SS zároveň vykazoval nejvyšší efektivitu využití selenu v první vlně (18,68 %).

Bylo zjištěno, že počet sklizňových vln nemá výrazný vliv na obsah selenu v plodnicích u varianty RR s přídatkem 6 mg/kg selenu. U kmene KZ 91 nebyl sledován výrazný vliv vývojové fáze plodnice na obsah selenu, kromě varianty 18 mg/kg, kde obsah ve střední vývojové fázi měl nejvíce selenu. To platilo i pro kmen KZ 120 s přídatkem selenu 6 mg/kg varianty O. Rozdíl byl sledován u varianty S.

Z výsledků práce vyplývá i toxické působení anorganických solí zinku a selenu v živném médiu u submerzní kultivace (roztok 2% sladiny), kdy s rostoucí koncentrací klesal výnos mycelia a byla nalezena silná závislost.

Klíčová slova: výnos; korálovec ježatý; substrát; selen; zinek

Study of selenium and zinc intake by the mycelia of *Hericium erinaceus* and their accumulation in fruiting bodies on substrates of different composition

Summary

In this thesis, the effect of selenium (in the form of Na_2SeO_3) and zinc (in the form of ZnSO_4) supplementation on growth parameters and the resulting selenium and zinc content in the fruiting bodies of four strains of lion's mane mushroom (*Hericium erinaceus*), of which two were wild and two were commercial, was evaluated. Selenium (2, 6 and 18 mg/kg) and zinc (10, 20 and 40 mg/kg) were added to a substrate composed of oak and beech sawdust with the addition of wheat bran and gypsum, and the substrate was subsequently steamed and inoculated. Two to three waves were harvested during cultivation. The highest selenium content in the fruiting bodies was measured in the variants with selenium addition of 18 mg/kg of wet substrate, specifically strain KZ 111 (217.45 $\mu\text{g/g}$). At the same time, a strong correlation was found between the added selenium and the resulting selenium content in the fruiting bodies. The addition of Na_2SeO_3 was shown to slightly increase the biological efficiency (BE) of the fruiting bodies, with a statistically significant increase in the strain KZ 120 of the 2 mg/kg variant. The addition had no significant effect on fruiting time. The change in colour of the fruiting bodies and mycelia was monitored, with intense pink colouration being achieved with selenium addition. The highest efficiency of selenium utilization (3.38-13.01 %) was determined for the 6 mg/kg selenium variant.

Higher levels of zinc were also determined in the dry matter compared to the control, but only in strains KZ 120 and KZ 91 was a strong correlation found between the zinc added to the substrate and the resulting zinc in the fruiting bodies. Strain KZ 120 (125.22 $\mu\text{g/g}$) accumulated the most zinc and had the highest yield. Substrates with zinc addition had lower BE compared to the control, with a significant decrease with the highest concentration (40 mg/kg). Strain KZ 111 (17.21%) had the lowest BE. Increased zinc doses significantly prolonged the fructification period except for strain KZ 91. The highest zinc utilization efficiency in the first flush of mushrooms (3.73-6.5 %) was determined for the variant with zinc addition of 10 mg/kg.

The effect of the addition of wheat bran (O), brewer's spent grain (S), rapeseed cake (RP), beet pulp (RR) and soybean hulls (SS) on yield and total selenium content at 6 mg/kg fortification was also investigated, the highest BE has substrate with addition of soybean hulls (88.83 %) and the variant with the addition of bran had the highest selenium content (69.89 $\mu\text{g/g}$). The substrate with SS addition also showed the highest selenium utilization efficiency in the first flush of mushrooms (18.68 %).

It was found that the number of flushes did not have a significant effect on the selenium content of the fruiting bodies in the RR variant with 6 mg/kg selenium addition. No significant effect of fruiting stage on selenium content was observed for strain KZ 91, except for the 18 mg/kg variant, where the content of the middle developmental stage had the highest selenium content. This was same for strain KZ 120 with 6 mg/kg selenium addition of variant O. The difference was observed for variant S.

The results of the study also show the toxic effect of inorganic salts of zinc and selenium in the culture medium in submerged cultivation (2% malt solution), where mycelial yield decreased with increasing concentration and a strong correlation was found.

Keywords: yield; *Hericium erinaceus*; substrate; selenium; zinc

Obsah

1 Úvod	9
2 Cíl práce a vědecká hypotéza	10
3 Literární rešerše	11
3.1 Korálovec ježatý	11
3.1.1 Složení	12
3.1.1.1 Biologicky aktivní látky	13
3.2 Kultivace	14
3.2.1 Teplotní a vlhkostní podmínky pěstírny	14
3.2.2 Pěstování v laboratorních podmínkách na tekutém a agarovém mediu	14
3.2.3 Pěstování na sypkých substrátech a kmenech	15
3.2.3.1 Pěstování na zemědělských vedlejších produktech a odpadech.....	17
3.3 Využití	19
3.3.1 Léčebné účinky	19
3.3.2 Potravina.....	21
3.3.3 Vyplozený houbový substrát	21
3.4 Selen	22
3.4.1 Nadměrná koncentrace selenu	23
3.4.2 Selen v houbách	24
3.4.3 Zdroje selenu.....	25
3.5 Zinek	25
3.5.1 Nadbytek zinku	26
3.5.2 Zdroje zinku a jeho vstřebávání.....	27
3.5.3 Zinek v houbách.....	27
3.6 Fortifikace Se a Zn houbových pěstebních substrátů	28
3.6.1 Pokusy se selenem	28
3.6.2 Pokusy se zinkem.....	30
4 Metodika	32
4.1 Harmonogram pokusů	32
4.2 Materiál	32
4.2.1 Kmeny korálovce	32
4.2.2 Použité materiály.....	33
4.3 Metody	33
4.3.1 Příprava sadby.....	33
4.3.2 Příprava substrátu.....	34
4.3.3 Submerzní kultivace.....	34
4.3.4 Kultivace plodnic	35
4.3.5 Analýzy.....	35

4.3.5.1	Stanovení celkového obsahu selenu a zinku.....	35
4.3.5.2	Stanovení CHNS.....	36
4.3.6	Výpočet BE (Biologická efektivita) a využití selenu a zinku.....	37
4.3.7	Statistika	37
4.4	Pokus číslo 1: Kultivace vybraných kmenů korálovce na obohacených pilinách	37
4.5	Pokus číslo 2: Obohacení substrátu o různém přídávku selenu	38
4.6	Pokus číslo 3: Obohacení substrátu o různém přídávku zinku	38
4.7	Pokus číslo 4: Submerzní kultivace dvou kmenů korálovce	39
4.8	Pokus číslo 5: Různé přídávky do substrátu	39
5	Výsledky.....	40
5.1	Pokus číslo 1: Kultivace vybraných kmenů korálovce na obohacených pilinách	40
5.2	Pokus číslo 2: Obohacení substrátu o různém přídávku selenu	41
5.3	Pokus číslo 3: Obohacení substrátu o různém přídávku zinku	45
5.4	Pokus číslo 4: Submerzní kultivace dvou kmenů korálovce	48
5.5	Pokus číslo 5: Různé přídávky do substrátu	50
6	Diskuze.....	54
6.1	Porovnání čtyř kmenů korálovce na substrátech obohacených různými přídávky.....	54
6.2	Sledování vlivu obohacení substrátu různými koncentracemi Na₂SeO₃ na výnos a obsah Se v plodnicích.....	54
6.3	Sledování vlivu obohacení substrátu různými koncentracemi ZnSO₄ na výnos a obsah Zn v plodnicích.....	56
6.4	Působení různých dávek Se a Zn na produkci mycelia v tekuté živné půdě	57
6.5	Vliv různých přídávku do substrátu na obsah Se v plodnicích a BE kmene KŽ 120	58
7	Závěr	60
8	Literatura.....	61
8.1	Internetové zdroje	70
9	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Jedlá a léčivá houba korálovec ježatý (*Hericium erinaceus*) je v asijských zemích hojně konzumována pro své nutriční a zdravotní účinky, nicméně v České republice tolik není známa. Obecně pěstování hub v České republice se značně liší od stavu ve světě, zejména v Asii, kde je konzumace hub běžná a jejich pěstování má dlouhou tradici. V České republice se houby často sbírají v přírodě, a to zejména houby jedlé. V posledních letech se ale však objevuje zájem o pěstování exotických hub. Poptávku hub bezpochyby podporuje vegetariánství a veganství, zájem o životní prostředí a naše osobní zdraví, mykoremediace a biomateriály z hub. Právě zde houby vynikají svou výživovou hodnotou, strukturou podobnou masu, obsahem biologicky aktivních látek a šetrnost k životnímu prostředí.

Selen je pro člověka nepostradatelným prvkem. V těle je zásadní pro tvorbu selenoroteinů a selenoenzymů, které zprostředkovávají řadu procesů. A to antioxidační obranu, imunomodulaci, detoxikaci, prevenci onkologických onemocnění, funkce štítné žlázy.

Co se týče zinku, tak ten má v lidském těle mnoho důležitých funkcí, podílí se na buněčném metabolismu, je důležitým katalyzátorem pro stovky enzymů, hraje roli v posilování imunitní funkce, dále syntéze bílkovin a DNA. Je zásadní a nezbytný antioxidační prvek pro prevenci vzniku volných radikálů v organismu. Zinek má vliv na celkovou homeostázu organismu, snižuje oxidační stres, napomáhá apoptóze a zpomaluje buněčné stárnutí a správné fungování mozku. Těmito svými vlastnostmi může působit na stav některých chronických onemocnění, jako jsou například autoimunitní onemocnění, neurologické poruchy, nebo degenerativní onemocnění spojená s věkem a Wilsonova choroba.

Konzumací biofortifikovaných hub do sebe nejen dostáváme biologicky aktivní látky, ale také samotné mikroprvky. Mikroprvky jako je selen a zinek se pomocí hub mohou z anorganických forem transformovat do forem organických, které jsou pro člověka mnohem lépe přijatelné. Houby, které jsou obohaceny o selen či zinek mohou lidskému tělu přinášet mnoho výhod.

2 Cíl práce a vědecká hypotéza

Ověřit výnos a optimální složení substrátů pro kulturu korálovce ježatého (*Hericiium erinaceus*) s ohledem na různé koncentrace seleničitanu sodného, respektive síranu zinečnatého.

Z navrhovaného cíle práce vyplývají následující hypotézy:

- 1) Příjem selenu a zinku myceliem korálovce je ovlivněn složením substrátu.
- 2) Koncentrace solí zinku a selenu ovlivňují termín nasazení a výnos plodnic.

3 Literární rešerše

3.1 Korálovec ježatý

Dle Index Fungorum (2023) je korálovec ježatý (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.) zařazen do říše hub (*Fungi*), oddělení stopkovýtrusné (*Basidiomycota*), pododdělení *Agaricomycotina*, třídy rouškaté (*Agaricomycetes*), řádu holubinkotvaré (*Russulales*), čeledi korálovcovité (*Hericiaceae*) a rodu (*Hericium*).

Houba je rozšířena v Evropě, Severní Americe a Asii. Roste vzácně, a to paraziticky na živých kmenech listnáčů, zejména buku a dubu, ale i saprofyticky na jejich padlých kmenech a pařezech (Stamets 2000; Thongbai et al. 2015; Jablonský et al. 2019). V České republice mimo korálovce ježatého roste i korálovec bukový a jedlový (Jablonský & Šašek 2006).

Jedinečný tvar plodnic této houby mu dal mnoho přezdivek. *Erinaceus* doslova v latině znamená „ježek“. Jméno navrhl Bulliard, evidentně mu houba toto zvíře připomínala. To se odráží také v německém názvu „Igel-Stachelbart“ a některých běžných anglických názvech jako „Bearded Hedgehog“ a „Hedgehog Mushroom“. Houba však dostala mnoho dalších názvů, z nichž všechny souvisí s nápadnou makromorfologií plodnic. V Číně se houba nazývá „猴頭菇“ (Houtou), což znamená „opičí hlava“. V Japonsku je známý jako „Yamabushitake“, Yamabushi doslova znamená „horský kněz“. Znáám je i pod názvem „Lion’s Mane“, „Bear’s Head“, „Pom Pom“, „Bearded Tooth“ a další (Thongbai et al. 2015).

Plodnice není rozdělena na treň a klobouk (Jablonský & Šašek 2006). Dosahuje velikosti 70-150 mm v průměru. Charakteristická je jejich kompaktnost a nevětvenost, dále plodnice mohou být kulovité až vejčité, bílé až bělavé, ve stáří a zasychání okrově hnědavé, na přední a spodní straně s převislými, šídlovitými, 10-40 mm dlouhými a na bázi 1,5 až 2 mm tlustými ostny. Dužina plodnice je plná, případně s několika dutinkami, měkká, bělavá (Jablonský et al. 2019), tuhá, vodnatá s nádechem chuti mořských plodů připomínající kraba nebo humra (Thongbai et al. 2015).

Výtrusy jsou bílé, 5,5-7,0×4,5-5,5 μm, elipsoidní, hladké až mírně zdrsněné. Přítomny přezky ale jsou málo časté (Stamets 2000). Hyfy jsou tlustostěnné s přezkami, v průměru dosahují 3-15 μm. Tvoří basidia ve velikosti 30-40 x 5-7 μm, která jsou čtyřsporá (Koski-Kotiranta & Niemelä 1987).

Stamets (2000) uvádí, že mycelium je bělavé, tvořící trojúhelníkové zóny s rhizomorfním růstem, vyrůstající ze středu. Pokud je horní a spodní část kultivační misky zalepena páskou, tak je sníženo a buduje se oxid uhličitý uvnitř misky. To stimuluje mycelium do tvorby vzdušného mycelia. Jak kultury stárnou, mycelia zežloutnou až lehce zruřoví. V kulturách na Petriho misce se tvoří primordia během 2-3 týdnů při inkubační teplotě 24 °C, viz obrázek 1. Vytvářejí protáhlé, vzdušné trny, které se stářím mění z bělavé na nažloutlou (Stamets 2000).



Obrázek 1: Mycelium korálovce ježatého rostoucím na agarovém médiu se zárodky plodnic (Autor 2022)

3.1.1 Složení

Mycelium a plodnice obsahují mnoho živin a bioaktivních sloučenin s terapeutickým a kulinářským využitím. Houby obecně obsahují 90 % vody a 10 % sušiny (Gonkhom et al. 2021). Složení jednotlivých látek a živin v houbách závisí na pěstebním médiu, podmínkách pěstování, stáří plodnice (Badalyan 2003) a také zda se jedná o kultivovanou nebo volně rostoucí plodnici (Kalač 2012). Rozbor plodnic a mycelia korálovce ježatého nám znázorňuje tabulka 1.

Hlavními chemickými složkami hub jsou bílkoviny a sacharidy. Bylo zjištěno, že obsah bílkovin v houbách je ovlivněn řadou faktorů, zejména druhem houby, stádiem vývoje, odebranou částí a množstvím dostupného dusíku v substrátu (Colak et al. 2009; Cohen et al. 2014). Cohen et al. (2014) uvádí, že mezi porovnávanými 12 druhy hub, mycelium korálovce mělo nejvíce bílkovin ze všech. Složení a kvalita esenciálních aminokyselin a bílkovin se blíží vaječnému bílku a je to tedy vhodná alternativa živočišného proteinu (Friedman 2015).

Houby jsou také dobrý zdroj minerálních prvků (Kalač 2012; Heleno et al. 2015), fenolických látek a obsahují více mononenasycených a polynenasycených mastných kyselin než nasycených mastných kyselin s vysokou koncentrací kyseliny linolové (> 30 g/100 g) a jsou dobrým zdrojem hořčíku, fosforu a zejména pak draslíku (Rodrigues et al. 2015). Mimo výše zmíněné látky korálovec také obsahuje významné množství mědi, železa a zinku. Vzhledem k rozdílům ve složení mezi myceliem a plodnicemi stejného druhu a mezi různými druhy, je vhodné využít kombinace plodnic a mycelia k optimalizaci jejich nutriční a zdraví prospěné hodnoty (Friedman 2015).

Látka	množství (g/100g sušiny) v plodnicích				množství (g/100g sušiny) v myceliu
Popeloviny	3,49	9,8	6,91	6,8	4,4
Celkové sacharidy	79,36		61,3	61,1	42,9
Celkové přístupné sacharidy	31,29	17,6	-	-	-
Celková vláknina	41,32	30	-	-	-
Nerozpustná vláknina	38,66	-	-	-	-
Rozpustná vláknina	2,66	-	-	-	-
Celkové volné cukry	23,63	-	-	-	-
Proteiny	15,4	31,7	18,8	20,8	42,5
Tuky	1,75	4	2,9	5,1	6,3
Energie (kcal/100 g sušiny)	394,79	233	-	374	398
Makroprvky a mikroprvky	množství (mg/100 g sušiny) v plodnicích				množství (mg/100 g sušiny) v myceliu
Ca	44,35	1,3	17,38	39,5	552,6
Mg	85,57	123	94,88	116	209,2
Na	586,78	-	-	15,7	16,6
K	1188,05	4,46	2881,55	2916,3	662,1
P	-	1,22	762,26	612,1	521,6
S	-	-	-	193,2	328,5
Fe	6,77	20,3	7,2	27	22,8
Cu	0,22	-	1,9	1,3	0,8
Mn	0,09	-	1,55	1,1	1,5
Zn	2,11	-	6,55	5,9	3,8
původ	příroda	nedefinováno	kultivováno	kultivováno	kultivováno
autor	Heleno et al. (2015)	Stamets (2000)	Rodrigues et al. (2015)	Cohen et al. (2014)	Cohen et al. (2014)

Tabulka 1: Rozbor plodnic *Hericum erinaceus*

3.1.1.1 Biologicky aktivní látky

H. erinaceus se skládá z mnoha bioaktivních látek s prokázanými zdraví prospěšnými vlastnostmi. Obsahuje strukturně rozmanité sloučeniny a asi sedmdesát různých sekundárních metabolitů (Chaiyasut & Sivamaruthi 2017). Rozdělují se na vysokomolekulární látky, jako jsou polysacharidy a nízkomolekulární látky jako jsou erinaciny a hericenony (Patočka 2014).

Polysacharidy se nacházejí především v buněčných stěnách hub a jsou přítomny ve velkém množství (Thongbai et al. 2015). Ve studii od Mori et al. (1998) bylo zjištěno, že polysacharidy se primárně vyskytují v plodnicích (26,63 %) oproti myceliu (18,71 %). Mezi nejvíce obsažené polysacharidy patří alfa-glukany a beta-glukany (Rodrigues et al. 2015), kam patří takzvané HEP (*Hericum erinaceus* polysacharidy), a to převážně HEP1-HEP5 (Yang et al. 2022). Jedny z nejvíce biologicky aktivních polysacharidů jsou HEP, EP1 a HEG5 (Winder et al. 2021). Například polysacharid HEP vykazuje protirakovinnou, antioxidační, gastroprotektivní, hepatoprotektivní, neuroprotektivní aktivitu a snižuje hyperglykémii i,

hyperlipidemii (Wang et al. 2019). Další polysacharidy jsou například xylany, glukoxylány, heteroxyloglukany a galaktoxyloglukany (Mizuno et al. 1992).

Velmi důležité a dobře prozkoumané bioaktivní metabolity jsou erinaciny (A-I), skupina cyathinových diterpenoidů získávaných z mycelia a hericenony (C-H), deriváty benzylalkoholu získávané z plodnice. Obě skupiny sloučenin snadno procházejí hematoencefalickou bariérou a vykazují neurotropní a neuroprotektivní účinky. Uvádí se, že indukují syntézu nervového růstového faktoru (NGF), a to jak *in vitro*, tak *in vivo* (Venturella et al. 2021).

Mimo výše zmíněné korálovec obsahuje i celou řadu dalších látek jako jsou například steroly (Dai et al. 2015), lektiny (Li et al. 2010), ergothioneiny (Kalaras et al. 2017), erinaceriny (Wang et al. 2015), erinapyrony nebo erinachromany (Wu et al. 2019). Plodnice a mycelium korálovce také obsahuje bioaktivní látky odvozené od aminokyselin, jako je Kyselina γ -aminomáselná (GABA), ergothionein a lovostatin, který byl zároveň nejvyšší ze všech 12 testovaných hub ve studii (Cohen et al. 2014).

Bylo zjištěno, že i samotné složení substrátu, obdobně jako u nutričního hlediska, vede ke změně koncentrace biologicky aktivních látek (Fan et al. 2021). Dalším aspektem je také světlo a jeho perioda, plodnice, které byly kultivovány za tmy měly mnohem vyšší obsah hericinu A než plodnice pěstované za světla (Turk et al. 2021).

3.2 Kultivace

3.2.1 Teplotní a vlhkostní podmínky pěstírny

Stamets (2000) uvádí, že optimální teplota je během kolonizace 21-24 °C s relativní vlhkostí 95-100 % a množstvím CO₂ 5 000-40 000 ppm. Doba prorůstání se liší dle množství použitého inokula, ale obvykle je okolo 10-14 dní. Při prorůstání není vyžadováno světlo. Imtiaj et al. (2008) stanovili nejlepší teplotu pro prorůstání na 25 °C s tím, že ještě přijatelných výsledků bylo dosaženo v rozmezí 20-30 °C. Ko et al. (2005a) ve svých pokusech zaznamenali nejlepší růst v rozmezí teplot 25-30°C, ale růst byl pozorován i při 35 °C. Gonkhom et al. (2022) uvádějí jako nejlepší teplotu pro prorůstání 25°C. Grygansky et al. (1999) měli nejlepší růst při teplotě 26 °C.

Na tvorbu primordií je ideální teplota 10-15,6 °C s relativní vlhkostí 95-100 %, CO₂ mezi 500-700 ppm, výměna čerstvého vzduchu 5-8 za hodinu a světlem o intenzitě 500-1000 luxů. Při těchto podmínkách by mělo dojít k vytvoření primordií během 3-5 dní (Stamets 2000).

Prorůstání plodnic probíhá při teplotě 18-24 °C, relativní vlhkostí 85-95 %, CO₂ 500-1000 ppm, výměnou čerstvého vzduchu 5-8 za hodinu a světlem o intenzitě 500-1000 luxů. Interval mezi sklizňovými vlnami je 14 dní (Stamets 2000). To je v souladu s Atila et al. (2021), kteří testovali 3 teploty na růst plodnic (15, 20 a 25 °C) na *Hericiium* spp. (*Hericiium erinaceus*, *H. coralloides* a *H. americanum*). Bylo zjištěno, že se kmeny mezi sebou výrazně liší, některé při vyšších teplotách (25 °C) nevytvářely plodnice žádné. Optimum pro nejvyšší biologickou efektivitu bylo stanoveno na 20 °C (Atila et al. 2021).

3.2.2 Pěstování v laboratorních podmínkách na tekutém a agarovém mediu

Dle Imtiaj et al. (2008) bylo nejvhodnější médium pro kultivaci korálovce PDA (Potato dextrose agar), YM (Yeast-malt extract), Hennerberg, Hamada a glukóza s peptonem, naopak

Czapek Dox, Hoppkins, glukózový trypton a Lilly byly nejméně vhodné. U všech medií bylo nejlepší pH 6 (Imtiaj et al. 2008). V pokusech Gonkhom et al. (2022) na 5 kmenech korálovce byl nejlepší agar složený z MYPA (malt yeast peptone agar), OMYA (oat meal yeast agar) a MEA (malt extract agar). Autoři také hledali optimální pH submerzní kultury, které stanovili mezi 4-5, kde byl nevyšší výnos mycelia. Zároveň byl testován nejvhodnější zdroj uhlíku a dusíku, který byl melasa pro uhlík a kvasniční extrakt pro dusík. Nejlépe smíchaný v poměru 10:1 (Gonkhom et al. 2021).

Jako optimální složení submerzního média pro kultivaci několika kmenů korálovce dle Jung et al. (2006) bylo následující složení: 3 % glukózy, 0,2 % kvasnicového extraktu/peptonu a 0,1 % $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{MgSO}_4$ (1:1). Při svých pokusech také zjistili, že nejlepší výnosy mycelia byly pozorovány při teplotě 22,3 °C a pH 5,7 (Jung et al. 2006). Výsledky Huang et al. (2007) ukázaly, že nejvhodnějšími zdroji uhlíku, dusíku, minerálních látek a kofaktorů pro produkci myceliální biomasy a exopolymerů byly: kukuřičná mouka v kombinaci s 1 % glukózy, kvasničný extrakt a KH_2PO_4 .

Samotné médium nemá ale vliv pouze na výnos mycelia, ale také na obsah biologicky aktivních látek. To bylo zjištěno například ve studiích Ofosu et al. (2016) a Avtonomova et al. (2012). Ukázalo se, že výtěžnost biomasy závisí především na zdroji uhlíku, zatímco obsah ve vodě rozpustných polysacharidů závisí především na zdroji dusíku (Avtonomova et al. 2012).

3.2.3 Pěstování na sypkých substrátech a kmenech

První rozsáhlé pěstování korálovce ježatého pochází z Číny (Jablonský & Šašek 2006; Sokół et al. 2015). Extenzivní způsob pěstování je možný pomocí naočkování kmenů nebo pařezů pomocí pilin, kolíčků a dalších metod používaných pro shiitake (*Lentinula edodes*). Jako optimální se osvědčily kmeny druhů jako je javor, dub, buk, jilm a podobných tvrdých dřevin. Olše a bříza se nedoporučují. Možnost je kmeny klást na sebe, nebo se mohou zakopat do jedné třetiny jejich délky do země na přirozeně stinném místě (Stamets 2000; Jablonský & Šašek 2006).

Intenzivně se tato houba obvykle pěstuje na sypkých substrátech v lahvích nebo sáčcích, viz obrázek 2 a 3. Pěstební substrát musí být sterilizován a plněn do nádob nebo sáčků z tepelně odolného materiálu, jako je polypropylen (PP) (Gonkhom et al. 2021). Podobně jako při pěstování ostatních hub je využit odpad ze zemědělství, lesnictví, dřevozpracujícího nebo potravinářského průmyslu (Sokół et al. 2015). Využití vedlejších zemědělských produktů jako doplňků do substrátu zlepšuje myceliální růst (Gonkhom et al. 2021). Nejčastěji je využíváno pilin z dubu (Ko et al. 2005a). V pokusech Imtiaj et al. (2008) bylo dosaženo nejrychlejšího růstu za použití 10-20 % suplementace dubových pilin rýžovými otrubami.

Očkování substrátů se provádí pomocí zrnité sadby, která je kultivována na žitu, pšenici, ječmeni, kukuřici nebo prosu. Použití sadby s vytvořenými plodnicemi není doporučeno, protože může dojít ke snadné bakteriální kontaminaci po inokulaci substrátu (Stamets 2000). Jako nejlepší zrno pro výrobu zrnité sadby se osvědčila pšenice a rýže, na kterých byl pozorován nejrychlejší růst mycelia. Optimální složení a typ záleží také na použitém kmenu korálovce (Gonkhom et al. 2021).

Optimální obsah vody v pěstebním substrátu pro pěstování *H. erinaceus* zaznamenané Gryganski et al. (1998) je 50-70 % a dle autorů Zhanxi a Zhanhua (1999) je 62-64 % s optimálním pH 5-6,5 (Stamets 2000), dle Grygansky et al. (1999) pH v rozmezí 5,8-6,2.

Obvykle trvá 33-40 dní od založení kultury, než se objeví první primordia a po 10 dnech po formaci primordií lze sklízet první vlnu plodnic (Ko et al. 2005a). Snížením vzdušné relativní vlhkosti několik hodin před sklizní na 60-70 % se prodlouží skladovatelnost a houby nemají tendenci se tak snadno při sklizni omačkat (Stamets 2000).



Obrázek 2: Korálovec ježatý pěstovaný v PP lahvích (Sokół et al. 2015)



Obrázek 3: Korálovec ježatý pěstovaný v PP sáčcích (Sokół et al. 2015)

3.2.3.1 Pěstování na zemědělských vedlejších produktech a odpadech

Výroba tradičního substrátu složeného primárně z pilin listnáčů může být v současné době problém. Kvůli jejich nedostatku jsou hledány vhodné alternativní substráty v podobě zemědělsko-průmyslových odpadů, které by je nahradily (Fan et al. 2021).

Atila (2019) pěstoval *Hericium erinaceus* na dubových, topolových pilinách, slámě z vikve seté, pšeničné slámě, odpadu světlice barvířské a fazolové slámě. Vlhkost substrátu byla v rozmezí od 67 % pro slámu vikve seté až po 70,5 % pro odpad světlice. Bylo použito 3 % zrnité pšeničné sadby. Inkubace zaočkovaného substrátu probíhala při teplotě 24 °C a relativní vlhkosti vzduchu 85 %. Po dokončení kolonizace substrátu myceliem byla teplota snížena na 18 °C a relativní vlhkost vzduchu se zvýšila na 90 %, přičemž osvětlení bylo zajištěno po dobu 8 hodin denně, hladina CO₂ méně než 1200 ppm. Korálovec prorostl za 17 až 23 dní v závislosti na složení substrátu a to nejrychleji na slámě z fazolí a nejpomaleji na bukových pilinách. Nejvyšší BE (biologická efektivita) byla dosažena na bukových pilinách (37,3 %), které měly nejvyšší obsah ligninu. Sklizeny byly vždy dvě vlny plodnic. Obsah dusíku v substrátu neměl přímý vliv na výnos hub. Celkový obsah N byl nižší na bukových a topolových pilinách, kde byly získány nejvyšší výnosy. Autor konstatuje, že výnos přímo souvisí s obsahem ligninu v pěstebním substrátu. Autor uvedl, že *H. erinaceus* přednostně používal hemicelulózu jako zdroj energie pro růst mycelia a průměrná ztráta hemicelulózy byla během tohoto období mezi 13,0 a 38,7 %. Zatímco v období fruktifikace výnos a biologická účinnost *H. erinaceus* silně korelovaly se ztrátou ligninu v substrátech (Atila 2019).

Hassan (2007) pěstoval korálovec na 6 různých substrátech: dubové piliny, rýžová sláma, pšeničná sláma, dubové piliny + rýžová sláma (1:1), dubové piliny + pšeničná sláma (1:1), rýžová sláma + pšeničná sláma (1:1), vždy s 20 % otrub, 1 % CaCo₃ a 1 % cukru. Použito bylo 2 % sadby. Vlhkost substrátu byla v rozmezí 63,39 – 64,90 %. Doba kolonizace substrátu 37-46 dní. Nejpomalejší byla na dubových pilinách a nejrychlejší na směsi pilin a pšeničné slámy. Výnos byl nejvyšší na substrátu složeného z dubových pilin, 20 % pšeničných otrub, 1 % CaCo₃ a 1 % cukru. Bylo dosaženo 50,3 % BE. Nejnižší byl na obohacené rýžové slámě - 33,9 % BE. Jako náhradu pilin je možné použít pšeničnou slámu, kde substrát smíchaný v poměru 1:1 dosáhl BE 46 % (Hassan 2007).

Kolektiv autorů Atila et al. (2018) pěstoval různé kmeny korálovce. Jako základní substrát byly použity dubové piliny a k přípravě pěstebního média byly přidány slupky bavlníkových semen a výlisky z oliv v poměrech 9:1, 8:2 a 7:3. Jako kontrola byly použity dubové piliny s přidavkem 20 % pšeničných otrub. Příslušná pěstební média byla přes noc namočená v destilované vodě a přebytečná voda byla vypuštěna, aby bylo dosaženo úrovně vlhkosti substrátu asi 70 %. Přidáno bylo 3 % sadby. Doba prorůstání byla od 27 do 38 dní a nejrychlejší u kontrolní skupiny, teplota prorůstání 25 °C a teplota plození 20 °C s osmihodinovým osvětlením BE izolátů se pohybovala mezi 22,3-44,4 % (dvě vlny plodnic), v závislosti na použitém pěstebním médiu. Nejvyšší BE pro všechny izoláty až na jeden, byly získány na médiu složeného ze 70 % dubových pilin a 30 % slupek bavlníkových semen. Dále bylo zjištěno, že substrát ovlivňuje množství makro a mikro elementů v plodnicích, množství bílkovin a antioxidační aktivitu v podobě celkového obsahu fenolů (Atila et al. 2018).

Různé přídatky do substrátu testovali Siwulski & Sobieralski (2005), kdy byl použit substrát z bukových pilin obohacený o pšeničné otruby (20 %), žitné zrno (25 %), sójový šrot

(7 %), řepkový šrot (10 %) nebo masokostní moučku (6 %). Nejvyšší výnosy byly získány na substrátu s pšeničnými otrubami a sójovým šrotem s BE okolo 50 %. Přídavky neměly žádný významný vliv na obsah sušiny (Siwulski & Sobieralski 2005).

Různé druhy a kmeny korálovce byly pěstovány na substrátu z dubových pilin s přídavkem (20 %) rýžových, pšeničných, ječných otruby, čínského zelí, vaječných skořápek a sójové mouky. Byla u nich zkoumána rychlost prorůstání mycelia a u vybraných substrátů i výnos plodnic. Substrát byl doplněn vodou na 65 % vlhkosti. Prorůstání probíhalo 20 dní při teplotě 25 °C, po kolonizaci byl substrát přemístěn do pěstírny s teplotou 18 °C, intenzitou světla 1000 lux koncentrací CO₂ pod 1000 ppm. Nejkratší doba prorůstání substrátu byla u přídavku sójové mouky. Výnos na substrátu obohaceném o 20 % rýžových otrub vykazoval BE 31-70 % (Ko et al. 2005a).

Jako dobrá volba při výrobě substrátu jsou slunečnicové slupky. Byly testovány 3 frakce slupek (12x2, 9x2 a prach) a různé přídavky k nim, ve formě 20% suplementace pšeničnými otrubami, ječné slámy a topolových pilin. Dále byl zkoumán vliv přídavku Mn a NH₄. Všechny substráty obsahovaly 0,5 % CaCO₃ a 2 % CaSO₄ a byly doplněny na 60 % vlhkost. pH substrátu se pohybovalo mezi 5,1-5,8, kdy nejvyšší bylo zaznamenáno u čistých slunečnicových slupek. Na inokulaci substrátů bylo použito 8 % zrnité sadby (na pšenici) k vlhkému substrátu. Kolonizace probíhala ve tmě při teplotě 24 °C po dobu 25 dní. Po kolonizaci byly sáčky se substrátem umístěny do 18 °C s bílou zářivkou o intenzitě 500-1000 Lux po dobu 12 h/den. Bylo zjištěno, že nejrychlejší přírůstky byly u frakcí slupek 12 x 4 mm a to 3,3 mm/den. Při přídavku Mn^{II} (20 a 100 ppm) se rychlost prorůstání zvýšila o zhruba 10 %. To samé platilo u přídavku NH₄⁺ (200 a 500 ppm), nicméně ve vyšších dávkách (750 ppm byl srovnatelný s kontrolou). Nejvyšší výnos byl u varianty 100% slupky s přídavkem 20 ppm Mn a 200 ppm NH₄⁺ a to s BE 43,1 %, nejnižší pak s přídavkem 20 % ječné slámy, který dosáhl 33 %. Samotné slunečnicové slupky dosáhly BE 37,4 %. Sklizeň byla provedena ve dvou vlnách (Figlas et al. 2007).

Studie z Taiwanu zkoumala čtyři různé vedlejší produkty ze zemědělství (rýžové otruby, rýžová sláma, bagasa z cukrové třtiny a sójová drť), které byly použity k částečné náhradě pilin pro kultivaci *Hericiium erinaceus* a *H. laciniatum*, aby se prozkoumal jejich vliv na biologickou účinnost. Mezi 10 experimentálními substráty byla biologická účinnost (ve dvou vlnách) těch s přídavkem bagasy z cukrové třtiny až 80,4 % pro *H. erinaceus* a 77,5 % pro *H. laciniatum*. Korálovce vykazovaly vyšší rozklad celulózy a ligninu ve výše uvedeném substrátu než v ostatních pokusných substrátech (Hu et al. 2008).

Obdobně jako studie z Taiwanu autoři Fan et al. (2021) zkoumali nahrazení pilin pomocí větviček z moruše a zbytků kořenů ze zpracování rostliny puerarie (*Pueraria lobata*). K porovnání byl použit kontrolní substrát složený z 80 % pilin, 18,8 % pšeničných otrub, 1,0 % CaSO₄ a 0,2 % CaCO₃. Zkoumané substráty byly pak vytvořeny z výše zmíněných zemědělských odpadů v různém poměru. Obsah vody byl upraven na 60 % a bylo přidáno 1 % sadby. Prorůstání probíhalo při 25°C. Po úplné kolonizaci byly sáčky přesunuty do pěstírny s teplotou 22 °C, osvětlením 8 h/den a 90 % relativní vzdušnou vlhkostí. Nejrychlejší prorůstání bylo u kontrolního substrátu a to 0,3 mm/den. Celková doba kolonizace pro různé substráty byla v rozmezí 28,0-35,2 dnů. Kontrolní substrát vykazoval nejkratší dobu plné kolonizace (28 dní) a dobu první sklizně (po 41,6 dnech). Byly sklizeny 4 vlny hub (až na kontrolní substrát, kde jen 3). Obecně byl

výnos druhé vlny vyšší než u ostatních. V každé vlně kontrolní skupina zaznamenala vyšší průměrnou hmotnost hub než jiné substráty. Nejvyšší hmotnost čerstvé houby a celková BE byla zaznamenána u varianty T5 (40 % větvíček moruše a 40 % zbytků kořene puerarie), a to 451,45 g/sáček, resp. 112,86 % a vyvrátilo se tím, že rychlost kolonizace nemá vliv na výnos. Autoři dále uvádí, že nebyla nalezena korelace mezi chemickým složením substrátu (lignin, celulóza a hemicelulóza) a výnosem a konstatují, že to mohlo být kvůli rozdílnému složení ligninu a celulózy jednotlivých typů substrátů. Nicméně byla nalezena korelace mezi úzkým poměrem C/N a vyšším výnosem (Fan et al. 2021). Jako další možný přídavek při pěstování korálovce mohou být například řepné řízky (Turk et al. 2021).

V Americe se mezi hobby pěstiteli stává populární tzv. „master’s mix“, který se skládá z 50 % pilin dřeva listnáčů a 50 % sójových slupek doplněný vodou na 60 %, se kterým přišel T.R. Davis z firmy Earth Angel Mushrooms. Populární web Fresh Cap Mushrooms tvrdí, že pomocí master’s mixu se může dosáhnout u korálovce výnosu 2 lb z 5 lb bloku (Shields).

3.3 Využití

Korálovec ježatý se pro své široké využití (viz kapitoly níže) stal v posledních letech velice vyhledávanou houbou, a to i v České republice. Toto tvrzení dokazuje zájem ve vyhledávání klíčových slov „Korálovec ježatý houba“ ve vyhledávači Google. Zájem o tuto houbu začal být od roku 2017, který pokračuje i ve stávajícím roce, jak můžeme vidět v grafu 1.



Graf 1: Celosvětový zájem o vyhledávání korálovce ježatého (Google Trends 2023)

3.3.1 Léčebné účinky

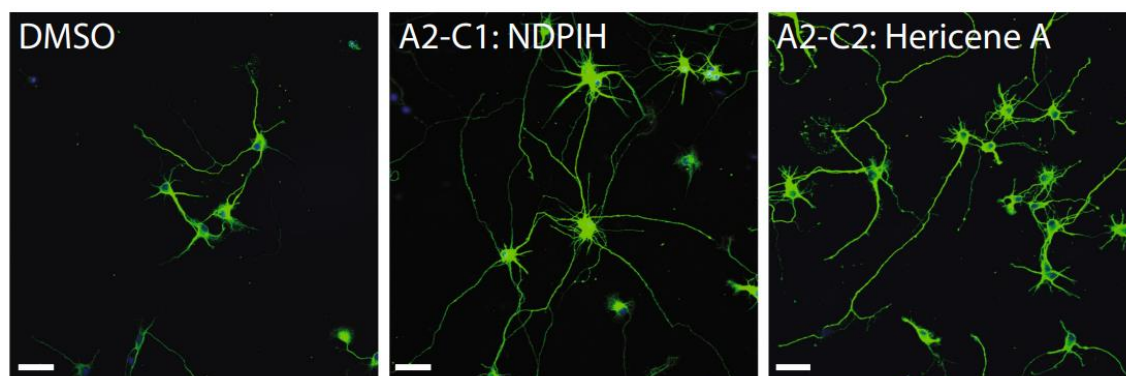
Korálovec ježatý má protizánětlivé, antioxidační, imunostimulační, protinádorové, antidiabetické, antimikrobiální, hypolipidemické a antihyperglykemické vlastnosti. Mimo to indukuje syntézu nervového růstového faktoru (NGF), a to jak in vitro, tak in vivo. Nejčastější využití této houby je při léčbě neurodegenerativních onemocnění a kognitivních poruch (Venturella et al. 2021). Hojně je předepisován v tradiční čínské medicíně (Thongbai et al. 2015).

Možnosti využití korálovce popisuje tabulka číslo 2.

Bioaktivní sloučeniny	Aktivita	Ošetření
Polysacharidy	Imunomodulační	Rakovina
	Protinádorové	Rakovina trávicího traktu (jater, žaludku, tlustého střeva), leukémie
	Antibakteriální	Infekce <i>Helicobacter pylori</i>
	Gastroprotektivní	Vředy, chronická gastritida
	Snižování hladiny cholesterolu a triglyceridů	Hyperlipidémie
	Hepatoprotektivní	Poškození jaterní tkáň
	Snížení hladiny glukózy v krvi	Diabetes
Hericenony A-B	Cytotoxické	Rakovina
	Proti agregaci krevních destiček	Cévní onemocnění, mrtvice, trombóza
Hericenony C-H, erinaciny A-I	Neuroprotektivní, neuroregenerační	Alzheimerova a Parkinsonova choroba, demence, deprese
Hericin	Snížení prozánětlivých mediátorů a cytokinů	Zánětlivá onemocnění
Polyfenoly	Antioxidační	Proti stárnutí kůže

Tabulka 2: Možnosti využití korálovce ježatého (Sokół et al. 2015)

Výše zmíněné dokládá četný počet studií. Například nová studie kolektivu autorů Martínez-Mármol et al. (2023), kdy bylo zjištěno, že myši krmené extraktem (vodný i alkoholový) z *H. erinaceus* a hericenem A vykazovaly zvýšenou expresi neurotrofinů a navazující signalizaci, což vedlo k významnému zlepšení hipokampální paměti. Zároveň i malé dávky napomohly k několikanásobným prodloužením axonů a zvýšením počtu neuritů viz obrázek 4.



Obrázek 4: Vliv kontroly (DMSO) a extraktů korálovce na hipokampální neurony (Martínez-Mármol et al. 2023)

Vliv korálovce na Alzheimerovu chorobu byl úspěšně prokázán v klinických studiích. Extrakty a bioaktivní sloučeniny korálovce ježatého, z mycelia a plodnic, mají potenciální příznivé účinky na zlepšení kognitivních funkcí, paměti a behaviorálních deficitů, kterou jsou s touto chorobou spojeny. Nicméně bylo prokázáno, že po vysazení došlo zase k zhoršení stavu pacientů, což naznačuje potřebu dlouhodobého užívání (Yu et al. 2022).

V klinické studii s osmitýdenním perorální podáváním korálovce bylo zjištěno, že korálovec snížil depresi, úzkost a poruchy spánku (Vigna et al. 2019).

3.3.2 Potravnina

Z možných využití korálovce ježatého připadá v úvahu konzumace plodnic v gastronomii, chlebu, fermentovaném houbovém víně a nealkoholických nápojích (Friedman 2015).

Ulzizjargal et al. (2013) zkoumali možnost využití přídavku mycelia do těsta při pečení chleba. Bylo přidáno 5 % sušeného mycelia, a i po upečení chléb s myceliem stále obsahoval značné množství kyseliny γ -aminomáselné a ergothioneinu (0,23-0,86 a 0,79-2,10 mg/g sušiny).

Dalším potravinářským využitím by mohlo být použití mletých plodnic při výrobě vína a octa. Obsah alkoholu ve výsledném houbovém víně dosáhl 16 %. Sensorické hodnocení organoleptických vlastností vína bylo kladně přijato. Ošetření bakteriemi *Acidophilus aceti*, vznikl ocet s kyselostí 4,09 % s přítomností kyseliny octové, jablečné a jantarové. Nový ocet vykazoval také antioxidační aktivitu.

Autoři Woraharn et al. (2015) dále testovali korálovec za účelem výroby fermentovaných nápojů a shledali možné využití korálovce přijatelným.

3.3.3 Vyplozený houbový substrát

Vyplozené houbové substráty je možné využít v mykoremediaci (čištění vzduchu, vody, půd a degradaci pesticidů), pro pěstování plodin (skleníkové květiny, ovoce a zelenina na poli), jako hnojivo do půdy, ve školkách a krajinných úpravách, jako krmivo pro zvířata, v ochraně proti škůdcům a chorobám, jako energetická surovina (alternativní palivo, výroba bioplynu), ve vermikompostování nebo jako zdroj enzymů. Zvažuje se také jeho opětovné použití při pěstování hub jako složky nového pěstebního substrátu pro další pěstební cykly, nebo jako krycí zemina (Zied et al. 2020). V minulých letech se především v asijských zemích vyplozený substrát páčil (Hanafi et al. 2018).

Pro krmné účely se používá vyplozený substrát od hub pěstovaných především na lignocelulózových odpadech, a to primárně ke krmení přežvýkavců jako přídavek do krmné směsi, neboť obsahuje neutrálně detergentní vlákninu, acido-detergentní vlákninu, lignin, celulózu, hemicelulózu, bílkoviny, vitamíny a některé minerály (Fazaeli et al. 2014; Hanafi et al. 2018).

Lze ho použít bez jakékoliv úpravy jako hnojivo, je taktéž vhodný do ekologického zemědělství, pokud jsou dodržena pravidla s legislativou (Hanafi et al. 2018). Po jeho aplikaci dochází ke zvýšení obsahu organické hmoty v půdě, aktivaci rozkladu posklizňových zbytků a hnojiv a stimulaci půdních mikroorganismů, což může mít za následek zlepšení přijatelnosti živin pro rostliny (Maher et al. 2000, Hanafi et al. 2018), jako je například zvýšení minerálního dusíku v půdě (Lou et al. 2017). Za účelem hnojení se dá míchat i s různými druhy jiných hnojiv, jako je třeba prasečí kejda pro doplnění dusíku (Meng et al. 2018). Možné je ho aplikovat i na povrch půdy jako mulč (Hanafi et al. 2018).

Díky své vysoké enzymatické aktivitě je také korálovec vhodný k bioremediaci (Sokół et al. 2015). Z vyplozeného substrátu je možné extrahovat celou řadu enzymů, mezi

kteře patří α -amyláza, celulóza, β -glukosidáza, lakáza a xylanáza (Ko et al. 2005b). Vypložený substrát tedy lze použít jako snadno dostupný a levný zdroj enzymů pro bioremediační účely (Phan & Sabaratham 2012).

Vypložené houbové substráty by mohly být považovány za snadno dostupný zdroj účinných látek na ochranu rostlin před houbovými a bakteriálními infekcemi, což by pomohlo zmírnit problém s likvidací odpadu v pěstování hub a vytvořit metodu šetrnou k životnímu prostředí, která by omezila výskyt rostlinných patogenů (Parada et al. 2012)

Vliv použití vyploženého substrátu korálovce k ochraně rostlin zkoumali vědci Kwak et al. (2015a) na rajčeti. Aplikován byl vodný výluh a bylo zjištěno, že má potenciál potlačovat bakteriální choroby rajčat prostřednictvím mnoha účinků, včetně antibakteriální aktivity, podpory růstu rostlin a indukci obranných mechanismů. Toto potvrzují i autoři Lee et al. (2015), kdy vodný výluh z vyploženého substrátu korálovce potlačil růst *Phytophthora capsici* a *Ralstonia solanacearum* u rajčete. Obdobné zjištění bylo i u papriky, kdy výluh potlačoval *Phytophthora capsici* a *Fusarium oxysporum* (Kwak et al. 2015b). Kolektiv autorů Aguiar et al. (2018) tuto vlastnost připisují polysacharidům hub, které mají prokázané antibakteriální účinky.

Využití nachází také v nových pěstebních cyklech pěstování hub a je velice studovaným tématem vzhledem k jeho nákladům a ekologickému aspektu. Nicméně se musí brát zřetel na samotnou sklizeň hub, pokud je sklizeň zhoršená, tak nemá cenu vypložený substrát znovu používat (Zied et al. 2020). Byl zkoumán vliv přídatku vyploženého substrátu různých druhů hub, včetně korálovce, při přípravě pěstebních bloků hlívy ústřičné a bylo zjištěno, že jeho přídatek může vést k vyšším výnosům (Lisiecka et al. 2021).

3.4 Selen

Selen je pro člověka nepostradatelným prvkem, nicméně může být také toxickým, záleží na jeho koncentraci a chemické formě, přičemž organické formy jsou bezpečnější a lépe přijímané, než anorganické (Solovyev et al. 2018). Co se týče koncentrace, tak bezpečná denní dávka pro dospělého člověka se pohybuje do 200 μg , nicméně tolerovaná dávka může být až 400 μg za den (Gąsecka et al. 2015). Lidské tělo si však selen nedokáže syntetizovat samo, a proto je nezbytné jej přijímat v potravě (Hu et al. 2021).

Selen je v těle zásadní pro tvorbu selenroteinů a selenoenzymů, které zprostředkovávají řadu procesů. A to antioxidační obranu, imunomodulaci, detoxikaci, prevenci onkologických onemocnění, funkce štítné žlázy a zrání a pohyblivost spermií (Kora 2020).

Houby, které jsou obohacené o selen mohou lidskému tělu přinášet mnoho výhod. Dle Kora (2020) konzumace hub obohacených o selen pomáhá při prevenci a působí podpůrně při léčbě onkologických, neurodegenerativních, kardiovaskulárních, a imunologických onemocnění a HIV infekci.

Selen ve formě doplňku stravy může působit jako prevence karcinogeneze kvůli účinkům na DNA, apoptózu, endokrinní a imunitní systém a antioxidačních vlastností (National Institute of health 2021). Spolar et al. (1999) podávali samicím potkanů stravu se selenizovanými houbami a jejich výsledky naznačily, že selen hraje roli při zpomalování růstu chemicky indukovaných nádorů u potkanů. Studie z roku 2003 naznačuje, že selen má protektivní vliv na karcinom prostaty (Duffield-Lillico et al. 2003). Na druhou stranu Vinceti et al. (2018)

uvádí, že přestože některé observační studie zjistily negativní korelaci mezi expozicí selenu a rizikem některých typů rakoviny, nelze z těchto výsledků usuzovat příčinnou souvislost. Dle Vinceti et al. (2018) mají tyto studie četná omezení, například problém s hodnocením expozice selenu a jeho různými chemickými formami.

Co se týče neurodegenerativních onemocnění, tak na ně selen může působit příznivě, protože jeho koncentrace v těle s věkem klesá, a jeho mezní nebo nedostatečná koncentrace může být spojena se snížením kognitivních funkcí (Shahar et al. 2010). U osob s nižší hladinou selenu v plazmě se pravděpodobněji v průběhu času vyskytne pokles kognitivních funkcí (Berr et al. 2000; Gao et al. 2007). Kesse-Guyot et al. (2011) v longitudinální studii zkoumali vliv každodenního užívání doplňků stravy, který mimo jiné obsahoval také 100 mcg selenu a 20 mg zinku, a to během osmi let. Experimentální skupina vykazovala oproti kontrole signifikantně lepší výsledky v testech paměti a v testech sémantická fluence, a to i po šesti letech od ukončení studie. V této studii však není jednoznačné, jakou konkrétní roli hrál selen, vzhledem k faktu, že suplement obsahoval také kyselinu askorbovou, vitamín E, beta-karoten a zinek (Kesse-Guyot et al. 2011)

Selenoproteiny mohou pomoci předcházet oxidační modifikaci lipidů, a zabraňují agregaci krevních destiček. Některé studie naznačují, že lidé, kteří mají nižší koncentraci selenu v těle mají vyšší riziko srdeční ischemické choroby (National Institute of health 2021). Dále selen pozitivně působí na štítnou žlázu. Průřezová studie (Rasmussen et al. 2011), jíž se zúčastnilo 805 dospělých jedinců naznačuje, že nízká koncentrace selenu se pojí se zvětšením štítné žlázy.

3.4.1 Nadměrná koncentrace selenu

Jak bylo zmíněno v předchozí kapitole selen má příznivé účinky na lidské zdraví a pro člověka je nepostradatelným prvkem. Zároveň je však jeho nadměrná konzumace toxická. Mezi příznaky nepřiměřeného chronického příjmu selenu u člověka v organické či neorganické formě patří následující: česnekový zápach z úst, kovová chuť v ústech, vypadávání vlasů, lámavost nehtů, zažívací obtíže, vyrážky, únava, podrážděnost a poruchy nervového systému (National Institute of Health 2021).

Hu et al. (2020) déle uvádějí, že nadměrný příjem je spojen s vyšším rizikem diabetu 2. typu. Rayman (2020) upozorňuje, že některé zdravotní problémy souvisí jak s nedostatkem, tak s přebytkem selenu. Jedná se o diabetes 2. typu a zvýšené riziko rakoviny prostaty. S nízkou či vysokou koncentrací selenu souvisí také úmrtnost (Rayman 2020). Studie, která sledovala 13 887 dospělých v průběhu dvanácti let a zkoumala souvislost koncentraci selenu v těle a úmrtnost, potvrzuje, že jak nízká a vysoká koncentrace selenu v lidském těle zvyšuje úmrtnost (Bleys 2006).

Velká část (70-95 %) organických a anorganických forem selenu je obvykle dobře absorbována přes střevní membránu. Díky podobným vlastnostem selenu a síry, mohou být určité specie selenu absorbovány stejnými cestami jako jejich sírné analogy. V důsledku toho může nastat konkurence při absorpci mezi sloučeninami síry a selenu, pokud jsou obě přítomny v potravinách v hojném množství (Finley 2006).

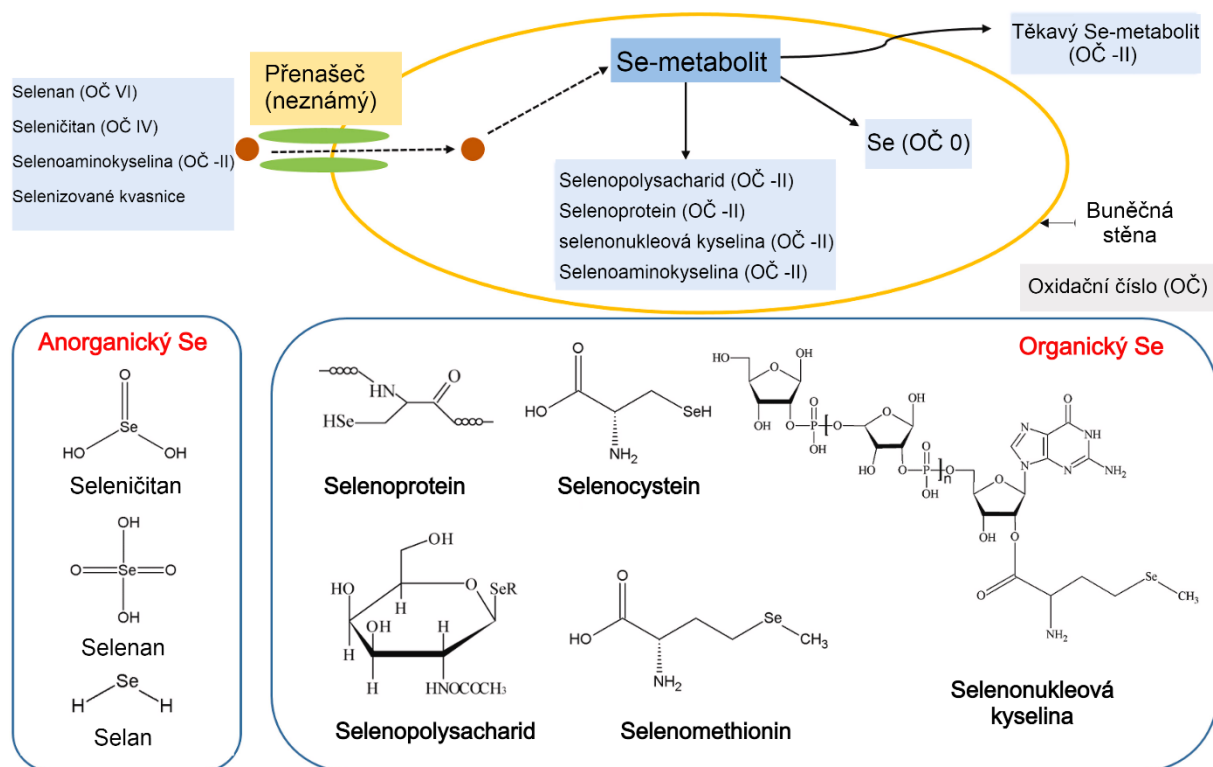
3.4.2 Selen v houbách

Většina pěstovaných jedlých hub má velmi nízký obsah selenu (0-8,5 µg/g sušiny) a proto se k jeho navýšení používá různých přísad do substrátu (Kora 2020).

Při pěstování hub obohacených selenem se používá především přísadku anorganických solí (SeO₂, Na₂SeO₃, Na₂SeO₄) nebo organický selen (selenizované kvasnice, selol) jako zdroj selenu. Malé dávky selenu podporují růst hub a mohou zvyšovat výnosy, nicméně vysoké koncentrace selenu mají opačný efekt. Po přidání selenu v anorganické formě do substrátu ho houby mohou přeměnit na řadu organických forem. Mimo výše zmíněné selen v určitých dávkách také zvyšuje koncentrace fenolických a flavonoidních látek, aminokyselin, kordycepinu a adenosinu.

Stejně jako síra patří selen do 16. skupiny periodické tabulky prvků. Nejčastější oxidační čísla Se jsou: -II, 0, +II, +IV a +VI. Mezi nejběžnější anorganické sloučeniny Se patří seleničitany (SeO₃^{-II}), selenany (SeO₄^{-II}) a selan (H₂Se), zatímco mezi organické sloučeniny Se patří selenopolysacharidy, selenoproteiny, selenonukleová kyselina, selenoaminokyseliny a některé těžké sloučeniny selenu (Xu et al. 2021), viz obrátek 5 níže. Obvykle je organický Se přítomen především ve formě selenoaminokyselin, jako je selenometionin v potravinách rostlinného původu a selenocystein v potravinách živočišného původu (Kora 2020).

Selen se vyznačuje snadnou změnou valenčních stavů. Tyto přeměny jsou ovlivněny několika faktory, jako je pH, koncentrace volného kyslíku, redoxní potenciál a vlhkost. Anaerobní podmínky a kyselé prostředí podporují tvorbu sloučenin selenu v nižších oxidačních stavech. Za aerobních podmínek a při alkalickém pH převládají vyšší oxidační stavy tohoto prvku (Kieliszek 2019).



Obrátek 5: Selen v houbách a jeho specie (upraveno Xu et al. 2021)

Metabolická dráha selenu určuje jeho distribuci a funkci. Z části bylo toto popsáno u lesklokorky (*G. lucidum*), kde je selen absorbován jako Se^{IV} nebo Se^{VI}. Protože je selen chemicky podobný síře, tak po transportu do buněk konkuruje síře za vzniku selenoaminokyselin, včetně selenocysteinu a selenomethioninu. Selenomethionin může nahradit methionin za účelem tvorby Se-proteinu, zatímco selenocystein je výchozí a hlavní sloučeninou pro syntézu dalších sloučenin Se. Při další tvorbě takovýchto sloučenin bylo identifikováno 9 enzymů, které figurují v metabolických reakcích v *G. lucidum*. Nicméně ne všechny metabolické dráhy a přeměny Se jsou doposud objasněny, jako je například syntéza Se-polysacharidu, jakožto jednoho z nejdůležitějších metabolitů (Xu et al. 2021).

Houby obohacené o Se obsahují komplexy selenopolysacharidů, díky kterým mají lepší protinádorové, antioxidační, antimikrobiální a protizánětlivé vlastnosti než běžné houby (Zhou et al. 2020).

3.4.3 Zdroje selenu

Do lidského organismu se selen dostává především v potravě. Hlavními zdroji tohoto prvku jsou produkty rostlinného a živočišného původu. Rostliny akumulují selen ve formě anorganických sloučenin s oxidačním číslem IV a VI, které se pak přeměňují na organické formy, zejména selenomethionin a selenocystein. Selenocystein převažuje v produktech živočišného původu. V této formě je selen konzumován člověkem, kde dochází k další přeměně tohoto prvku, je vázán na aminokyseliny a bílkoviny (Kieliszek 2019).

Vyšší množství selenu je obsaženo v potravinách bohatých na bílkoviny, zatímco v rostlinných produktech s nízkým obsahem bílkovin je jeho koncentrace nižší. Hlavními zdroji selenu ve stravě jsou například obiloviny, maso a mléčné výrobky, ryby, mořské plody, mléko a ořechy (Kieliszek 2019). Mezi další rostlinné zdroje patří například brokolice, cibule, česnek, čočka, mrkev, brambory (Gač et al. 2021).

Značný obsah selenu je i v houbách, který je obvykle vyšší než u většiny zeleniny, ale je vysoce variabilní, přičemž obsah selenu v nich je pod 1 mg Se/kg sušiny (Solovyev et al. 2018).

Podle Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) mohou dospělí dosáhnout dostatečného příjmu selenu příjmem 70 µg selenu na denně. Tato dávka zajišťuje vyrovnaní plazmatického selenoproteinu P (SePP), která odráží nasycení funkčním selenem v těle (EFSA 2014). Zatímco německá, rakouská a švýcarská společnost pro výživu doporučují denní příjem selenu na 60 µg pro ženy a 70 µg pro muže, přičemž se bere v úvahu rozdíl v referenční tělesné hmotnosti specifické pro jednotlivá pohlaví (Kipp et al. 2015). Institute of Medicine (USA) (2000) považuje 55 µg selenu denně za dostatečné množství k pokrytí požadavků na selen, přičemž vychází z dávky, která je nezbytná k maximalizaci potřeby selenu pro aktivitu glutathionperoxidázy.

3.5 Zinek

Zinek je základní prvek, který nalezneme v některých potravinách, ale je také často užívaným doplňkem stravy nebo jej najdeme i v některých lécích na nachlazení. V lidském těle má zinek mnoho důležitých funkcí, podílí se na buněčném metabolismu, je důležitým katalyzátorem pro stovky enzymů, hraje roli v posilování imunitní funkce, dále syntéze

bílkovin a DNA. V našem těle se většina zinku nachází v kostech a kosterním svalstvu a jeho množství se liší podle pohlaví. U žen se pohybuje okolo jednoho a půl gramu a u mužů se jedná o dva a půl gramu (National Institute of health 2021). Běžná hladina tohoto prvku v těle se tedy pohybuje do tří gramů, což z něj dělá, hned po železe, druhý nejkoncentrovanější kov v organismu. Je zásadní a nezbytný antioxidační prvek pro prevenci vzniku volných radikálů a skrze tuto funkci působí na mnohá onemocnění, o kterých bude řeč dále v textu (Pae et al. 2012).

Nedostatek zinku můžeme pozorovat až u 17 % světové populace, a snížená hladina tohoto prvku se může vázat s různými zdravotními problémy (Chasapis et al. 2020). Zinek má vliv na celkovou homeostázu organismu, snižuje oxidační stres, napomáhá apoptóze a zpomaluje buněčné stárnutí. Těmito svými vlastnostmi může působit na stav některých chronických onemocnění, jako jsou například autoimunitní onemocnění, neurologické poruchy, nebo degenerativní onemocnění spojená s věkem a Wilsonova choroba (Chasapis et al. 2012).

Velmi důležitou funkcí, na které se zinek v těle podílí je apoptóza. Jedná se o řízenou buněčnou smrt, tento proces pomáhá naše tělo chránit před nádorovými, neurodegenerativními či autoimunitními onemocněními (Chasapis et al. 2020). Zinek se v tomto procesu uplatňuje jak v jeho aktivaci, tak inhibici, a to skrz změny jeho intracelulární a extracelulární koncentrace, kdy působí na konkrétní enzymy, které dokáže aktivovat (Chasapis et al. 2012).

Nedostatek zinku může mít za následek zhoršení buněčné imunity, konkrétně působí na makrofágy, NK-buňky, cytokin. Dále negativně ovlivňuje intracelulární zabíjení patogenů a fagocytózu. Nedostatečná hladina zinku také utlumuje imunitní odpověď typu Th-1, a tím se lidské tělo stává náchylnější k infekcím (Prasad 2009).

Esenciální kovy, včetně zinku, mají vliv na správné fungování mozku, a narušení jejich rovnováhy či distribuce se váže s neurodegenerativními onemocněními. Snížená hladina zinku může být jednou z příčin aktivace signálních drah zánětlivých reakcí, a negativních reakcí na oxidační stres. To ovlivní regulační a katalytické funkce různých enzymů a receptorů (Li et al. 2019). Konkrétně lze zmínit například progresivně postupující onemocnění Alzheimerovu chorobu. Progrese u této nemoci se mimo jiné pojí se zvýšením antioxidačního stresu v mozku, který je ovlivňován také množstvím zinku v těle (Chasapis et al. 2020). Loeff et al. (2012) uvádějí, že pacienti trpící touto chorobou mají zvýšenou koncentraci zinku v mozku.

Zinek je také jedním z prostředků léčby při Wilsonově chorobě. Jedná se o dědičné onemocnění (Schilsky 2017) při kterém dochází k hromadění mědi v játrech a centrální nervové soustavě, což vyvolává cytotoxické účinky a poškozuje dané orgány (Hedera 2019). Mezi léky první volby při Wilsonově chorobě jaterního a neurologického typu, patří soli zinku v chelátové vazbě, protože zinek zabraňuje nadměrnému vstřebávání mědi do krve. Hedera (2019) uvádí, že tato léčba se zdá být méně účinná pro ukládání mědi v játrech než v jiných orgánech.

3.5.1 Nadbytek zinku

Nerovnováha homeostázy zinku má komplexní důsledky v řadě různých procesů v mozku, které pak mohou vést ke vzniku chronických patologií, jako jsou již zmíněná Alzheimerova choroba, deprese, schizofrenie, Parkinsonova choroba nebo amyotrofická laterální skleróza (Szewczyk 2013). V tomto případě se však bavíme o výkyvech

od fyziologické hodnoty zinku na obě strany, tedy o jeho nedostatek tak i nadbytek. Pokud se budeme bavit pouze o nadbytku, je třeba zmínit větší množství zinku v mozku. Nadbytek neurálního zinku může být neurotoxický. Ve zvýšeném množství moduluje receptory kyseliny gama-aminomáselné A a glycinové receptory, které neurotoxicitě zabraňují (Kuenzel et al. 2016).

Zinkem se můžeme předávkovat při dávce 100 mg/kg až 180 mg/kg za den, a to při konzumaci potravy s touto koncentrací zinku po dobu dvou až čtyř týdnů. Předávkování lze zjistit z hladiny zinku v séru nebo plazmě (Szewczyk 2013). Bezpečnou hladinu denní dávky příjmu zinku stanovil Institute of Medicine, Food and Nutrition Board (2001) u dospělých mužů a žen na 40 mg zinku za den. Dávka je však závislá na věku, u novorozenců do šesti měsíců se jedná pouze o 4 mg denně.

Při středním nadbytku zinku, například při konzumaci doplňků a stravy bohaté na zinek, můžeme zaznamenat kovovou příchut' v ústech a nevolnost či zvracení. Velké perorální dávky zinku mohou narušit biologickou dostupnost mědi, protože si s tímto prvkem konkurují při vstřebávání. Při vysokých denních dávkách přesahujících 150 mg, byly zaznamenány imunitní dysfunkce (Das & Das 2012).

3.5.2 Zdroje zinku a jeho vstřebávání

Hlavními zdroji zinku je červené maso, drůbeží maso, ryby a mořské plody, celozrnné obiloviny a mléčné výrobky. Nejvíce zinku je však pro lidské tělo dostupné z masa. Biologická dostupnost zinku z rostlinných potravin je nižší kvůli vláknině a kyselině fytové, které brání jeho vstřebávání (Institute of Medicine, Food and Nutrition Board 2001).

Zinek je zásadním prvkem pro tělo i při získávání a využívání jiných živin z potravy. Například je důležitý při katalytické aktivitě karboanhydrázy, která je součástí červených krvinek a žaludečních šťáv a je zásadní při ukládání dalších nezbytných prvků pro tělo, konkrétně vápenatých solí v zubech a kostech. Dále je také důležitou složkou enzymu karboxypeptidázy A, což je pankreatický enzym aktivního odbourávání bílkovin. Další enzym obsahující zinek je alkoholdehydrogenáza, jenž je nezbytná pro přeměnu alkoholu na aldehyd, čímž usnadňuje metabolismus alkoholu v játrech (Das & Das 2012).

Dle Gač et al. (2021) mezi nejlepší zdroje zinku patří hovězí a skopové maso, vnitřnosti (játra), korýši, ryby, obiloviny, kořenová zelenina, ořechy a luštěniny. Co se týče doporučené dávky zinku, kterou bychom měli za den přijmout, tak se samozřejmě liší dle věku a pohlaví. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board (2001) uvádí, že dospělý muž nad 19 let by měli za den přijmout 11 mg zinku, zatímco ženy ve stejné věkové kategorii pouze 8 mg. Doporučená denní dávka u žen je také závislá na tom, zda jsou těhotné nebo kojí. U těhotných žen nad 19 let je doporučená denní dávka 11 mg a u kojících žen 12 mg zinku. Těhotné a kojící ženy do 18 let mají tuto dávku o jeden mg vyšší, mluvíme tedy o 12 mg a 13 mg zinku za den.

3.5.3 Zinek v houbách

Schopnost bioakumulace minerálních látek, zejména těžkých kovů, je u hub podstatně vyšší než u zemědělských plodin, zeleniny a ovoce. Houby mají tendenci bioakumulovat více molekul díky vlastnostem svého mycelia (Poursaeid et al. 2015). Ve studii Rasalanavho et al. (2020) bylo analyzováno 5 druhů hub z různých lokalit, koncentrace zinku

v sušině byla v rámci druhů velice variabilní (212,53-39,44 mg/kg). Bylo zjištěno, že na míru bioakumulace jednotlivých prvků mají vliv některé faktory prostředí (např. koncentrace minerálních látek v kultivačním médiu, pH a organické látky) ale i samotné huby (např. druh houby, vlastnosti daného kmene, podmínky růstu mycelia a plodnic a analyzovaná morfoloická část) (Poursaeid et al. 2015). Nejdůležitější mechanismus pro samotnou akumulaci těchto prvků je založený na vazbě těchto prvků na metalothionein, který vykazuje afinitu zejména ke kovům, jako je i zinek (Muszyńska et al. 2016). Takto přijatý anorganický zinek je biotransformován do organických forem, převážně polysacharidů a je lépe biologicky dostupný pro člověka oproti anorganické formě (Zheng et al. 2020).

3.6 Fortifikace Se a Zn houbových pěstebních substrátů

3.6.1 Pokusy se selenem

Na fortifikaci selenem je celá řada publikací. Přídavek selenu do pěstebního média korálovce ježatého v podobě (Na_2SeO_3 , Na_2SeO_4 a SeMet) se zabývali autoři Hu et al. (2020). Bylo zjištěno, že přídatky výše zmíněných sloučenin v malém množství stimulovaly růst mycelia, ale vysoké dávky byly už toxické (od 400 $\mu\text{g/ml}$ pro seleničitan a od 800 $\mu\text{g/ml}$ pro selenan). Toto ale neplatí při přidavku selenu do substrátu (0,5, 1, 2,5, 5, 10, 20, 40, 80, 100 a 200 $\mu\text{g/g}$), kde nebyl nalezen žádný pozitivní efekt při nízkých přídavicích, ale pouze u vyšších docházelo ke snížení výnosu (u seleničitanu hned při nejnižší koncentraci). Nejvyšší koncentrace Se v plodnicích byla 111,8 $\mu\text{g/g}$ (při obohacení seleničitanem 40 $\mu\text{g/g}$). Byla provedena i speciace a bylo zjištěno, že převládající specií je SeMet (> 63,9 %), dále pak SeCys2, 2 neznámé specií Se, MeSeCys a stopovým množstvím S^{IV} (1,2-3 %). Toxické působení je spojeno s tvorbou reaktivních forem kyslíku, peroxidací membránových fosfolipidů, inhibicí dýchání nebo poškozením DNA (Hu et al. 2020).

Pokusy probíhaly i při submerzní kultivaci. Ve srovnání s kontrolním živným médiem neměla nízká koncentrace seleničitanu sodného (25 mg/l anorganického Se) v kultivačním médiu významný vliv na růst mycelia (9,01 g/l), ale vyšší koncentrace anorganického selenu způsobily hmotnosti mycelia na hodnotu 2 g/l při 100 mg/l. Bylo zjištěno, že kultury se zbarvují do cihlově červené barvy, což naznačuje neutralizaci vysoce toxického seleničitanu sodného prostřednictvím akumulace špatně rozpustné amorfní alotropické červené formy elementárního selenu (Se^0). Naopak přídavek organické formy selenu (selol) způsobil růst statisticky významný nárůst biomasy mycelia i ve vyšších koncentracích. Autoři také zjistili, že se zvyšujícím se přídávkem Se se zvyšoval i obsah biologicky aktivních látek (Malinowska 2009).

Kolektiv autorů Savić et al. (2009) studoval růst mycelia na agaru a akumulaci selenu v plodnicích hlívy ústříčné ze substrátu při přidavku 2 anorganických formy selenu (Na_2SeO_4 a Na_2SeO_3). Koncentrace 1, 10 a 25 mg/l vykazovaly stimulační efekt na růst mycelia, zatímco vyšší koncentrace (75-150 mg/l) byly toxické. Na substrátu na pilinách doplněném o 100 mg/kg Na_2SeO_3 a Na_2SeO_4 byl obsah selenu v plodnicích 205-213 a 154,7-169,3 mg/kg oproti kontrole, kde byl 1 mg/kg. Výše zmínění autoři konstatují, že obsah Se v plodnicích závisí na chemické formě Se.

Fortifikace selenem ve formě seleničitanu aplikovali autoři de Oliveira & Naozuka (2019) na druhy *P. djamor* a *P. ostreatus*. Použity byly různé koncentrace do substrátu

6,4; 12,8 a 25,6 $\mu\text{g/g}$ (Se^{IV}). U *P. ostreatus* byla pozorována mírná deformace plodnic a při obohacení od 12,8 $\mu\text{g/g}$ a při obohacení 25,6 $\mu\text{g/g}$ také zápach. Biologická efektivita nebyla významně změněna, nicméně při aplikaci nižších koncentrací byl pozorován pozitivní vliv na BE. S vyšší dávkou selenu do substrátu byl také pozitivně změněn příjem a biodostupnost ostatních prvků (Fe, Mn, P, S a Zn) u *P. djamor* a negativně ovlivněn příjem Fe a P u *P. ostreatus*. Obsah selenu se v houbách pohyboval od 19 do 76 $\mu\text{g/g}$, kdy se se zvyšující koncentrací v substrátu zvyšoval i obsah selenu a byl vyšší u *P. djamor* (de Oliveira & Naozuka 2019). U hlívy máčkové *P. eryngii* var. *Eryngii* byla pozorována velmi silná závislost ($r=0,98$) mezi koncentrací selenu v substrátu a výsledného obsahu v plodnicích. V pokusech byly použity 2 koncentrace selenu, v podobě přídatku Na_2SeO_3 , do substrátu (0,5 a 10 $\mu\text{g/g}$). Koncentrace selenu v plodnicích pěstovaných ve 2 fortifikačních hladinách byla stanovena na 4,6-9,3 $\mu\text{g/g}$. Nebyl pozorován statisticky významný rozdíl ve výnosu plodnic (Rodriguez Estrada et al. 2009).

Možnost biotransformace anorganického selenu do organických forem byla zkoumána autory Zhao et al. (2004) na *Ganoderma lucidum*. Do pěstebního substrátu byl doplněn Na_2SeO_3 na výslednou koncentraci selenu 100-250 $\mu\text{g/g}$. Při nejvyšší hladině obohacení bylo v houbě naměřeno 72 $\mu\text{g/g}$ selenu. Přijmutý selen se integroval do bílkovin (56-61 %), polysacharidů (11-61 %) a dalších sloučenin (18 %) (Zhao et al. 2004). Analýzou specií selenu v plodnicích a myceliu *P. pulmonarius* obohacených o seleničitan sodný se zabýval tým Milovanovic et al. (2019). Bylo zjištěno, že hlavní Se-sloučeninou je selenomethionin (Se-Met) a řada dalších neznámých specií, které byly obsaženy v malém množství. Většina z Se-Met (84,0 %) a Met (methionin) (75,8 %) se v plodnicích nacházely ve volné formě, na rozdíl od mycelia, kde je 53,4 % Se-Met a 80,5 % Met inkorporováno do proteinů (Milovanovic et al. 2019).

Pokusy byly prováděny také na houbách rostoucích na fermentovaných kompostech jako je žampion (*Agaricus bisporus*), kdy autoři Cremades et al. (2012) pěstební kompost zalévali roztokem Na_2SeO_3 v koncentraci 100 $\mu\text{g/ml}$ a výsledný obsah v sušině byl 3,12 $\mu\text{g/g}$ a u kontrolní varianty 0,42 $\mu\text{g/g}$. Prange et al. (2019) změřili obsah selenu v žampionech na 0,3-2,8 $\mu\text{g/g}$ při obohacení kompostu 10 mg/kg Na_2SeO_3 . Autoři také provedli speciaci selenu: 55 % Se-(methyl-Lseleno)cysteine, 35% seleno-DLmethionine a 10 % Na_2SeO_3 . Obdobně pak autoři Stefánka et al. (2001) analyzovali biofortifikované houby žampionu v koncentraci selenu 10 mg/kg, ve formě Na_2SeO_3 , a zjistili obsah selenu 110,2 $\mu\text{g/g}$, kde zhruba 27,7 $\mu\text{g Se/g}$ bylo ve formě organické (selenocystein) a 46,4 $\mu\text{g Se/g}$ ve formě Se^{IV} .

Další možností fortifikace selenem je použití selenizovaných kvasinek do substrátu. Například autoři Savic et al. (2011) je používali při pěstování *A. bisporus* a přidávali je do různých fází růstu (krycí zemina nebo při prorůstání). Se zvyšující se dávkou rostl přímo úměrně i obsah selenu v plodnicích, nejvyšší byl naměřen 353,2 mg/kg při aplikaci 140 mg/kg selenu ve formě selenizovaných kvasinek ve fázi prorůstání.

Anorganické soli (Na_2SeO_3 a Na_2SeO_4) také přidávali do substrátu autoři Niedzielski et al. (2014), kdy testovány byly 3 druhy hub, *A. aegerita*, *G. lucidum* a *H. erinaceus* při různých hladinách obohacení (0,1; 0,2; 0,4; 0,6 a 0,8 mM). Statisticky neprůkazné ovlivnění výnosů korálovce při aplikaci anorganických solí selenu do koncentrace 0,2 mM nebylo pozorováno, nicméně při navýšení nad 0,4 mM včetně, byl sledován negativní vliv a toxické působení selenu, kdy ze všech hub byl korálovec nejvíce náchylný. Dělána také

byla speciace, kde bylo zjištěno, že značná část přijmutého selenu je zabudována do organických forem. Při pokusech také bylo pozorováno narůžovění (u korálovce) a ztráta barvy (u polničky) po přidání solí selenu (Niedzielski et al. 2014).

Vědci Ślusarczyk et al. (2014) pěstovali mycelium korálovce ježatého s přidavkem Na_2SeO_3 (100 mg/l), Selolu (s 20 a 50 g/kg Se) a směsi Na_2SeO_3 a selolu. Vzorky mycelia byly odebrány 3. a 24. den inkubace a analyzovány pod elektronovým mikroskopem. Selol v koncentraci 20 g/kg nezpůsobil žádné poškození ultrastruktury buněk, ale přispěl ke ztluštění buněčné stěny, což má pozitivní vliv na produkci polysacharidů. V ostatních případech se objevily degradační změny v protoplazmě a tloušťka buněčné stěny se nezvětšila. U přidavku čistého Na_2SeO_3 došlo k usmrcení 90 % buněk během 24 h (Ślusarczyk et al. 2014).

Také autoři Kaur et al. (2018) zjistili při pokusech s hlívami na pšeničné slámě získané z oblastí s vysokým selenem v půdě, že se obsah selenu více než stonásobně zvýšil ve srovnání s kontrolní skupinou. Testované houby výše zmíněných autorů mají tedy vysokou schopnost akumulace selenu do svých plodnic.

3.6.2 Pokusy se zinkem

Fortifikaci substrátů a submerzního média zinkem a mědí studovali autoři Matute et al. (2011) na *G. lucidum*. Zvoleny byly dávky 25, 50 a 100 mg/kg Cu nebo Zn ve formě síranu. Přídavek 25 a 50 mg/kg Cu vykazoval tendenci stimulovat růst mycelia, ale při vyšších hladinách (200 mg/kg Cu) došlo k výrazné inhibici růstu. Přídavek 25 a 50 mg/kg Zn v médiu vyvolal lehkou stimulaci růstu. Při vyšších koncentracích síranu Zn (200 mg/kg) došlo k velmi výrazné inhibici růstu. Po přidání přídavku Zn a Cu do pěstebního substrátu bylo pozorováno mírné zvýšení BE. Obsah zinku v plodnicích nebyl přímo úměrný s přidavkem do substrátu, kdy s 1. fortifikační hladinou byl dokonce nižší než v kontrolní skupině (Matute et al. 2011).

Byl studován vliv různých koncentrací zinku na bioakumulaci zinku a výnos v myceliu a plodnicích *Pleurotus florida* pěstovaného v tekutém médiu. Výsledky ukázaly, že optimální přídavek zinku v podobě ZnSO_4 do tekutého média byl 100 mg/l zinku. Toxické a negativní účinky byly pozorovány až při koncentraci 150 mg/l jak pro výnosy mycelia, tak pro výnosy plodnic. Zároveň bylo zjištěno, že mycelium je schopné naakumulovat více zinku než plodnice, přičemž se zvyšující se dávkou se zvyšoval i obsah zinku, až na nejvyšší koncentraci 300 mg/l Zn, kdy byl mírný pokles oproti předchozí koncentraci (Poursaeid et al. 2015).

V pokusech kolektivu autorů Jablonský et al. (2022) byl sledován vliv přídavku seleničitanu sodného a síranu zinečnatého do substrátů několika druhů hub. Při selenizaci substrátu byly použity následující koncentrace selenu 0, 2, 6 a 18 mg/kg. Nejlépe reagovala hlíva ústříčná, která absorbovala 40, 100 a 290 $\mu\text{g Se/g}$ sušiny. Dále pak houževnatec jedlý, který při stejných koncentracích absorboval do svých plodnic 20, 60 a 140 $\mu\text{g Se/g}$. Nejhůře pak vycházely 3 druhy lesklokorek (*Ganoderma lucidum*, *Ganoderma lingzhi* a *Ganoderma adspersum*), u kterých byl naměřen selen v obsahu 2,5-11 $\mu\text{g/g}$ pro variantu 2 mg/kg, 9-33 $\mu\text{g/g}$ pro variantu 6 mg/kg a 25-75 $\mu\text{g/g}$ pro variantu 16 mg/kg selenu. Všechny kontrolní varianty obsahovaly v průměru do 0,5 $\mu\text{g/g Se}$. U hlívy ústříčné byl zkoumán i obsah selenu v kloboucích a třeních, kdy v kloboucích byl stanoven v průměru dvojnásobek obsahu selenu. Dále byl zkoumán vliv přídavku síranu zinečnatého do substrátu na výsledný obsah zinku v plodnicích výše zmíněných hub. Přídavek Zn do substrátu byl zvolen na 0, 10, 20 a 40 mg/kg.

U hlívy ústřičné byl rozdíl v obsahu zinku mezi kontrolními vzorky a vzorky sklizenými ze substrátů s nejvyšším přidavkem zinku v průměru jen 15,6 µg/g a nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Celkové obsahy se pohybovaly v rozmezí 65-80 µg/g. Obsah zinku hlívy se ale lišil podobně jako u selenu v kloboucích a třeních, kdy v kloboucích bylo zhruba dvojnásobek zinku. Lesklokorky obsahovaly zinku ve svých plodnicích méně (10,9-36 µg/g Zn). U *G. lucidum* docházelo se zvyšující se koncentrací Zn v substrátu k mírnému nárůstu zinku v plodnicích (až o 14 µg/g Zn mezi kontrolou a 40 mg/kg), nicméně u *G. lingzhi* obsah se zvyšující se dávkou kolísá, kdy u variant 20 a 40 mg/kg byl víceméně totožný s kontrolou (Jablonský et al. 2022).

Ve studii Zięba (2020) byla zkoumána schopnost mycelia *P. eryngii* v submerzní kultivaci a plodnic z hlediska jejich účinnosti při akumulaci zinku a selenu. Byl také stanoven vliv biofortifikace Se a Zn na výnos, chemické sloučeniny a obsah prvků v *P. eryngii*. Pro zvýšení obsahu Se a Zn v plodnicích a myceliu *P. eryngii* byly substráty doplněny seleničitanem sodným v koncentraci 50 mg/l, síranem zinečnatým (87,2 mg/l) a hydroaspartátem zinečnatým v (100 mg/l), tak aby zmíněné koncentrace Zn obsahovaly stejné množství iontů Zn^{II} , a to 20 mg/l. Oproti kontrolním variantám bylo sledováno zvýšení u výnosu mycelia při přidání solí zinku, u selenu nebylo statisticky prokázáno. Po přidání solí do substrátu došlo ke snížení výnosů všech variant oproti kontrole, kdy statisticky významné snížení bylo u seleničitanu sodného. Obsah zinku v plodnicích byl vyšší při použití hydroaspartátem zinečnatého (5,45 mg/100 g sušiny) oproti $ZnSO_4$ (4,39 mg/100 g), u mycelia tomu bylo naopak (289,5 a 178,3 mg/100 g sušiny). U selenu se obsah u plodnic zvýšil z 0,05 na 1,36 mg/100 g a u mycelia z 2,1 na 18,79 mg/100 g.

4 Metodika

4.1 Harmonogram pokusů

Pokus číslo 1

Příprava substrátu 14.2.2022
Očkování/založení 21.2.2022/23.3.2022 (30 dní)
Uzavření pokusu 29.4. 2022

Pokus číslo 2

Příprava substrátu 7.4.2022
Očkování/založení 11.4./6.5.2022 (25 dní)
Uzavření pokusu 10.6.2022

Pokus číslo 3

Příprava substrátu 15.6.2022
Očkování/založení 21.6.2022/17.7.2022 (21 dní)
Uzavření pokusu 24.8.2022

Pokus číslo 4

Příprava živného roztoku 25.7.2022
Očkování/založení 25.7.2022
Uzavření pokusu 15.8.2022 (21 dní prorůstání)

Pokus číslo 5

Příprava substrátu 22.8.2022
Očkování/založení 24.8.2022/14.9.2022 (21 dní)
Uzavření pokusu 1.11.2022

4.2 Materiál

4.2.1 Kmeny korálovce

Jako pokusný materiál bylo zvoleno pět kmenů korálovce ježatého (*Hericium erinaceus*), viz tabulka č.3 níže. Udržování kultur probíhalo na MEA (malt extrakt agar), tedy na agaru (Agar-Agar, Kobe I, Carl Roth, Německo) s přidavkem 2 % sladiny (Carl Roth, Německo).

Kmen KZ 111 je komerční kmen původem z Belgie, viz obrázek VII.

Kmen KZ 120 je komerční kmen z Vietnamu, viz obrázek VIII.

Divoké české kmeny KZ 91 a KZ 92 byly získány izolací plodnic, viz obrázky V a VI.

Kmen KZ 11 z Katedry zahradnictví, původem z USA, viz obrázek IV.

Kmen označení KZ	Původní označení
KZ 91	Vlastní izolát - Brno
KZ 92	Vlastní izolát - Dobříš
KZ 111	Mycelia Belgie - M9514
KZ 120	Rajtar - Vietnam
KZ 11	USA

Tabulka 3: Testované kmeny korálovce ježatého

4.2.2 Použité materiály

Pro přípravu substrátů byly využity topolové piliny a směs dubových a bukových pilin získané od firmy Albaflor, dále pak sádra, řepkové pokrutiny, slunečnicové pokrutiny, pšeničné otruby, řepné řízky a mláto získané v Demonstrační a pokusné stáji FAPPZ ČZU v Praze a sójové slupky od firmy CHOCOLAND a. s.

Pěstební sáčky byly zakoupeny od firmy SACO2, konkrétně polypropylenový sáček model PP50/SEU4/V40-51.

Roztoky síranu zinečnatého a seleničitanu sodného byly získány z útvaru Laboratorní environmentální chemie ČZU v Praze.

Rozbory jednotlivých složek substrátů viz tabulka 4. provedené na KAVR FAPPZ ČZU Praha.

Materiál	N (%)	C (%)	H (%)	S (%)	C/N (%)	Se (μg/kg)	Zn (μg/kg)
Sójové slupky	4,67	45,94	6,901	0,084	9,84	0,07	48,2
Pšeničné otruby	2,91	41,84	6,543	0,053	14,38	0,04	118,3
Slunečnicové pokrutiny	5,65	46,05	6,635	0,226	8,15	0,18	137,3
Řepkové pokrutiny	5,32	44,98	6,653	0,425	8,45	0,24	76,1
Řepné řízky	1,41	37,87	5,805	0,022	26,86	0,05	20,9
Mláto	3,22	40,93	6,147	0,049	12,71	0,09	113,4
Piliny buk, dub	0,23	45,41	6,156	0,000	197,43	0,02	11,3
Topolové piliny	0,18	44,98	6,122	0,000	249,89	0,02	38,2
Sádra	0	0	1,046	16,740	-	0,02	1,2
Substrát S	0,83	44,06	6,103	0,177	53,36	0,034	31,62
Substrát SS	1,12	45,06	6,254	0,184	40,39	0,03	18,58
Substrát RP	1,25	44,87	6,204	0,252	36,02	0,064	24,16
Substrát RR	0,46	43,45	6,035	0,172	93,70	0,026	13,12
Substrát O	0,76	44,24	6,182	0,178	57,93	0,024	32,60
Substrát SP	1,27	44,74	6,174	0,213	35,17	0,052	57,65

Tabulka 4: Rozbor použitých materiálů

Sadba hub byla připravena na pšeničném zrnu z Výzkumné stanice Červený újezd ČZU a sádry.

Jako zdroj výživy v submerzním médiu byl zvolen 2% sladinový extrakt (Carl Roth, Německo).

4.3 Metody

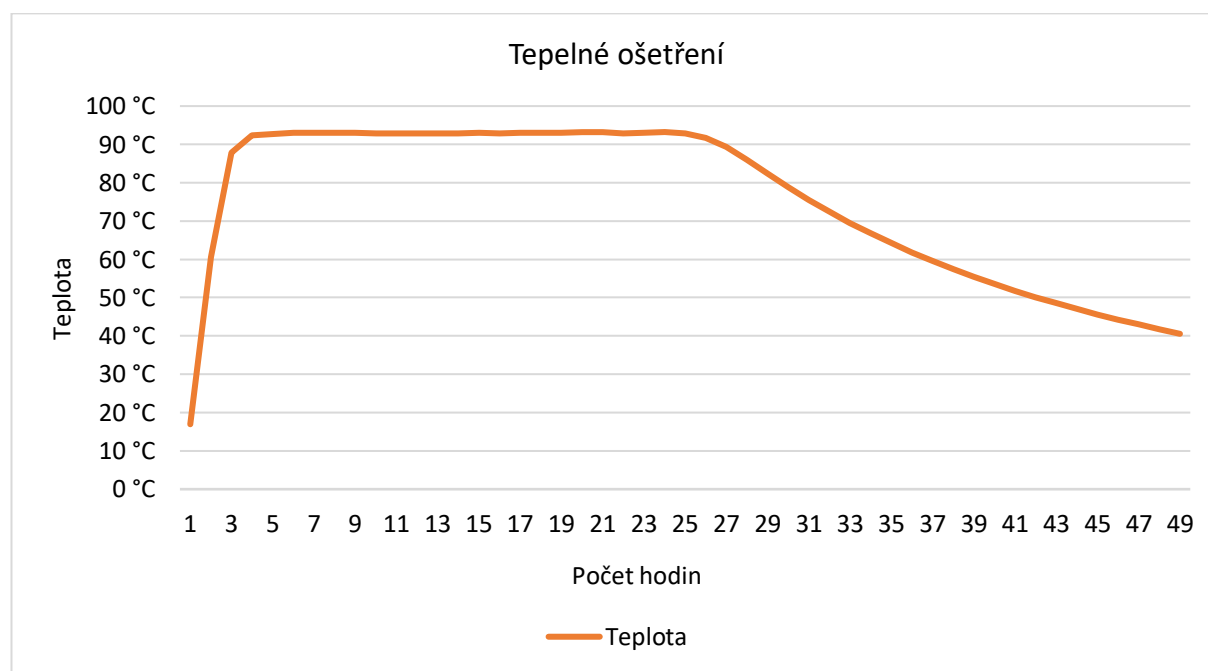
4.3.1 Příprava sadby

Pšeničné zrno bylo propláchnuto vodou od hrubých nečistot a následně vařeno do optimální hydratace 40-45 %. Následně byla přidána sádra (1,5 %) a směs nasypána do 1 l skleněných lahví s buničínovým filtrem a vysterilizovány 3 hodiny při 121 °C v autoklávu (MLS-3781L, Sanyo Electric CO., Ltd., Japonsko).

Po vychladnutí byly lahve naočkovány příslušnými kmeny korálovce v čistém prostřední flowboxu (Flow FAST H, Faster s.r.l, Itálie) a poté inkubovány při 24 °C po dobu 14-20 dnů, viz obrázek I.

4.3.2 Příprava substrátu

Dle metodiky jednotlivých pokusů bylo zvoleno předem určené složení substrátu, který byl doplněn na 64-65 % vlhkosti. Po homogenizaci byl substrát naplněn do PP (polypropylenových) sáčků a propařen po dobu 24 h při teplotě 90 °C v propařovací komoře ve Výzkumné stanici Červený Újezd, viz graf 1. Vychladlý substrát byl zaočkován 4 % sadby ve flowboxu (Flow FAST H, Faster s.r.l, Itálie) a inkubován při teplotě 24 °C bez přímého slunečního záření po dobu 21 až 30 dnů. Po 14-20 dnech byly sáčky v průběhu inkubace vyfouknuty a obráceny dnem vzhůru, aby se co nejvíce zamezilo předčasné fruktifikaci, viz obrázek II. Průběh teploty byl měřen pomocí dataloggeru (TGU-4500, Gemini Data Loggers Ltd., UK). Připraveno bylo 4-8 opakování dle pokusu, výsledné počty opakování jsou uvedené v tabulkách v přílohách.



Graf 2: Průběh tepelného ošetření substrátu

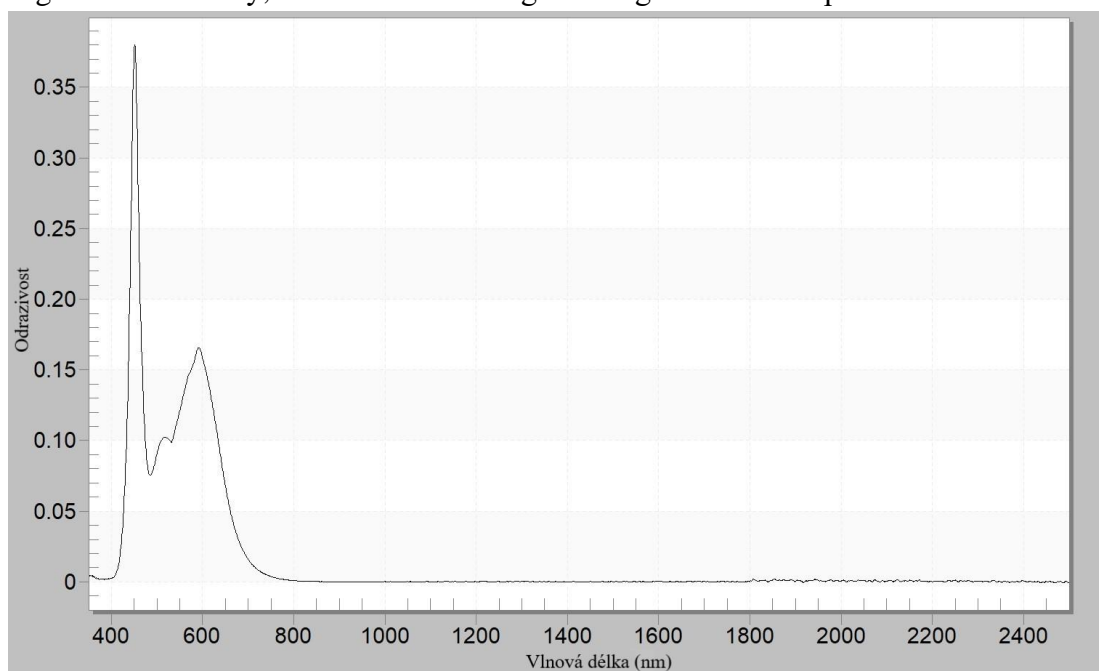
4.3.3 Submerzní kultivace

Kultivační roztok (2% roztok sladiny) byl připraven smícháním destilované vody, sladivým extraktem (Carl Roth, Německo) a odpovídajícím množstvím seleničitanu sodného nebo síranu zinečnatého a naplněn do kultivačních baněk po 75 ml, které byly vysterilizovány po dobu 20 minut v autoklávu. Následně zaočkovány čtverečkem agarů o velikosti 1x1cm odpovídající kultury a umístěny do třepací komory (IS-971RF, Jeio Tech Co., Ltd., Korejská republika) na 21 dní při teplotě 24 stupňů a otáčkami 180 rmp, viz obrázek X. Po 21 dnech byl obsah zfiltrován pomocí Buechnerovy hlavice a mycelium lyofilizováno a zváženo. Filtrát byl měřen spektrofotometrem (DR/4000 HACH, Německo) při absorbance při 600 nm.

4.3.4 Kultivace plodnic

Samotná kultivace probíhala v pěstebním boxu umístěném na katedře Zahradnictví ČZU, viz obrázek III, kde byla udržována teplota v rozmezí 17-18 °C, relativní vlhkosti 90-95 % a osvětlení 500 luxů. Pravidelným větráním byla koncentrace CO₂ udržována pod 1000 ppm. Pro iniciaci plodnic bylo v sáčku vytvořeno X o velikosti 3x3 cm čistým nožem, ze kterého následně plodnice rostly. Sklizené plodnice (ve 2 až 3 vlnách) byly zváženy a lyofilizovány.

Odrazivost v jednotlivých vlnových délkách pěstebního světla byla změřena pomocí přístroje FieldSpec 4 Hi-Res (ASD Inc., Colorado, USA) ve vzdálenosti 15 cm od světelného zdroje, viz graf 2. Jedná se o přenosný spektrometr, který pracuje ve spektrálním rozsahu 350-2500 nm a má spektrální rozlišení 3 nm při 700 nm a 10 nm při 1400/2100 nm. Kalibrace byla provedena pomocí softwaru ASD RS3. Tmavá reference byla vygenerována softwarem jako aktuální kalibrační soubor pro tmavou referenci. Bílá reference byla získána na bílém referenčním standardu Spectralon od společnosti LabSphere (Currà 2019). Měření provedl Ing. Petr Zábranský, Ph.D. na Katedře agroekologie a rostlinné produkce ČZU.



Graf 3: Odrazivost v jednotlivých vlnových délkách pěstebního světla

4.3.5 Analýzy

4.3.5.1 Stanovení celkového obsahu selenu a zinku

Stanovení celkového obsahu selenu a zinku v houbách a jednotlivých substrátech provedl Ing. Lukáš Praus, Ph.D. na pracovišti Laboratorní environmentální chemie ČZU v Praze. Vzorky hub a substrátů byly lyofilizovány v lyofilizátoru (L10-55, GREGOR Instruments s.r.o., Česká republika) a jemně namlety na mlýnku (ETA). Homogenní houbový/substrátový prášek byl navážen (0,2 g) s přesností na 0,0001 g do křemenných zkumavek (35 ml) a mineralizován ve směsi 4 ml HNO₃ (Analpure®, Analytika, Česká republika) a 2 ml H₂O₂ (Rotipuran®, Carl Roth, Německo) v uzavřeném mikrovlnném systému (Discover SP-D, CEM Corp., USA). Byl zvolen následující teplotní program: ohřev na teplotu 180 °C po dobu 10 min,

následně zdržení na této teplotě po dobu 6 min. Výsledný mineralizát byl kvantitativně přelit do plastových zkumavek (50 ml) a naředěn ultračistou H₂O ($\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$; Milli-Q systém; Millipore, SAS, Francie) na finální objem 40 ml. V naředěných mineralizátech byla změřena koncentrace Se a Zn technikou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS, Agilent 7700x, Agilent Technologies Inc., USA) v Laboratoři environmentální chemie, FAPPZ. Výsledky byly přepočteny na navážku a korigovány na obsah sušiny, který byl stanoven při teplotě 120 °C v přístroji (TDAB 200-2-A, Kern, Německo). Výsledky byly validovány paralelním stanovením obsahu Zn a Se v certifikovaných referenčních materiálech Peach Leaves (SRM 1547, NIST) a Bovine Liver (BCR-185R, IRMM). Úhrnná úroveň kontaminace vzorků plynoucí z analytického postupu byla ověřována analýzou slepých procedurálních vzorků.

Použitý přístroj ICP-MS se skládá z autosampleru ASX-500, koncentrického zmlžovače MicroMist, dvouplášťové Scottovy mlžné komory, oktapólové kolizní/reakční cely a kvadrupólového hmotnostního analyzátoru. Izotopy ⁶⁶Zn a ⁷⁸Se byly měřeny v módu kolizního plynu (helium), který snižuje úroveň spektrálních polyatomických interferencí, které způsobují falešně pozitivní signál (např. z ⁴⁰Ar ³⁸Ar⁺). Ke kalibraci ICP-MS byla použita metoda externí kalibrace pomocí komerčních roztoků o certifikované koncentraci Zn a Se (ASTASOL-MIX, Analytika, Česká republika). Signál analytů byl korigován na signál interního standardu ⁷²Ge, který byl kontinuálně přiváděn do zmlžovače.

4.3.5.2 Stanovení CHNS

Ke stanovení CHNS ve vzorcích byl použit elementární analyzátor (CHNS vario MACRO cube, Elementar, Německo). Vzorky byly naváženy (150 mg) do cínových plátek předem vytvarovaných do košíků. Vzorek byl spálen ve spalovací trubici za konstantní teploty 1150 °C. Jako nosným plynem bylo použito He/O₂. Redukční trubice byla vyhřáta na teplotu 850 °C, kde byl navázán nadbytečný kyslík, NO_x se redukuje na NO₂ a váže se zde těkavé halové sloučeniny. Analýza byla provedena na katedře Ing. Janou Najmanovou na Katedře agroenvironmentální chemie a výživy rostlin.

4.3.6 Výpočet BE (Biologická efektivita) a využití selenu a zinku

Biologická efektivita byla vypočítána jako podíl čerstvých plodnic a váhy suchého substrátu a vynásobené 100. Výsledná efektivita je vyjádřena v procentech. Výpočet vyjadřuje rovnice 1 níže.

$$BE \% = \frac{\text{váha čerstvých plodnic (g)}}{\text{sušina substrátu (g)}} * 100$$

Rovnice 1: Výpočet BE (Hassan 2007)

Využití přídatku selenu a zinku v 1. vlně bylo vypočteno dle rovnice číslo 2, jako podíl mezi celkovým obsahem akumulovaného prvku plodnicí a celkovým obsahem prvku v substrátu (přídatek do substrátu a počáteční obsah prvku v materiálu bez obohacení). Výsledná využitelnost je vyjádřena v procentech.

$$\text{Využitelnost \%} = \frac{\text{výnos sušiny (g)} * \text{obsah prvku v sušině (}\mu\text{g/g)}}{\text{přídatek prvku (}\mu\text{g/g)} * \text{hmotnost substrátu (g)}} * 100$$

Rovnice 2: Výpočet využitelnosti přídatku selenu a zinku

4.3.7 Statistika

Statistické šetření bylo provedeno v programu Statistica 13 (TIBCO Software Inc., USA). Byla použita jedno a dvoufaktorová analýza rozptylu (ANOVA) následována Fisherovou LSD metodou. Pro porovnání závislostí byl použit model korelační matice a regresní a korelační analýzy, vzniklé grafy a matice byly upraveny v programu Microsoft Excel, kdy čím je regresní koeficient blíže k 1, tím silnější je vztah: 0,0-0,2 velmi slabý, 0,2-0,4 slabý, 0,4-0,6 středně silný, 0,6-0,8 silný a 0,8-1 velmi silný. Hladina významnosti byla stanovena $p=0,05$.

4.4 Pokus číslo 1: Kultivace vybraných kmenů korálovce na obohacených pilinách

Byly připraveny dva typy substrátů. V každém sáčku 2,5 kg substrátu.

- 1) Varianta P - 79 % topolových pilin, 20 % pšeničných otrub a 1 % sádry.
- 2) Varianta O - 79 % směs topolových pilin, 20 % slunečnicových pokrutin a 1 % sádry.

Výsledná vlhkost substrátu byla 61 %.

Sklizeny byly dvě až tři vlny za sledované období růstu.

4.5 Pokus číslo 2: Obohacení substrátu o různém přídávku selenu

Byly připraveny čtyři typy substrátů. Ve výsledném vlhkém substrátu byl přírůdek selenu 0, 2, 6 a 18 mg/kg v podobě Na_2SeO_3 . Do každého pěstebního sáčku bylo naváženo 2 kg připraveného substrátu.

- 1) K (kontrolní) substrát - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % pšeničných otrub a 1 % sádry.
- 2) 2 mg/kg Se - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % pšeničných otrub, 1 % sádry a roztok Na_2SeO_3 .
- 3) 6 mg/kg Se - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % pšeničných otrub, 1 % sádry a roztok Na_2SeO_3 .
- 4) 18 mg/kg Se - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % pšeničných otrub, 1 % sádry a roztok Na_2SeO_3 .

Substráty byly hydratovány vodou na 64 %.

Sáčky se substráty byly naočkovány sadbou čtyř kmenů korálovce ježatého (KZ 91, 92, 111 a 120). Sklizeny byly dvě vlny plodnic. Dále u kmene KZ 91 byly plodnice sklizeny v dalších dvou vývojových stádiích, a to malá plodnice (dva dny po objevení primordií) a středně veliká (pět dní po objevení primordií).

4.6 Pokus číslo 3: Obohacení substrátu o různém přídávku zinku

Byly připraveny čtyři typy substrátů. Ve výsledném vlhkém substrátu byl přírůdek zinku 0, 10, 20 a 40 mg/kg v podobě ZnSO_4 . Do každého pěstebního sáčku bylo naváženo 2 kg připraveného substrátu.

- 1) K (kontrolní) substrát - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % pšeničných otrub a 1 % sádry.
- 2) 10 mg/kg Zn - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % pšeničných otrub, 1 % sádry a roztok ZnSO_4 .
- 3) 20 mg/kg Zn - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % pšeničných otrub, 1 % sádry a roztok ZnSO_4 .
- 4) 40 mg/kg Zn - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % pšeničných otrub, 1 % sádry a roztok ZnSO_4 .

Substráty byly hydratovány vodou na 64 %.

Každý substrát byl naočkován 4 kmene korálovce ježatého (KZ 91, 92, 111 a 120). Sklizeny byly dvě vlny plodnic.

4.7 Pokus číslo 4: Submerzní kultivace dvou kmenů korálovce

Bylo připraveno sedm variant živných medií po čtyřech opakováních pro submerzní kultivaci s různým obohacením síranem zinečnatým nebo seleničitanem sodným. Postup viz kapitola 4.3.3. V pokusech byl použit roztok 2% sladiny připravený v destilované vodě.

- 1) K (kontrolní) médium - 2 % sladina a destilovaná voda.
- 2) 2 mg/l Se - 2 % sladina a destilovaná voda a roztok seleničitanu sodného.
- 3) 6 mg/l Se - 2 % sladina a destilovaná voda a roztok seleničitanu sodného.
- 4) 18 mg/l Se - 2 % sladina a destilovaná voda a roztok seleničitanu sodného.
- 5) 10 mg/l Zn - 2 % sladina a destilovaná voda a roztok síranu zinečnatého.
- 6) 20 mg/l Zn - 2 % sladina a destilovaná voda a roztok síranu zinečnatého.
- 7) 40 mg/l Zn - 2 % sladina a destilovaná voda a roztok síranu zinečnatého.

4.8 Pokus číslo 5: Různé přísady do substrátu

Bylo připraveno pět variant substrátů s různými typy přísad. Ve výsledných vlhkých substrátech byl přísadek Se v podobě Na_2SeO_3 6 mg/kg. Do každého pěstebního sáčku bylo naváženo 2 kg připraveného substrátu.

- 1) O (sloužící jako kontrola) - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % pšeničných otrub, 1 % sádry a roztok seleničitanu sodného.
- 2) SS - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % sójových slupek, 1 % sádry a roztok seleničitanu sodného.
- 3) RR - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % řepných řízků, 1 % sádry a roztok seleničitanu sodného.
- 4) S - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % mláta, 1 % sádry a roztok seleničitanu sodného
- 5) RP - 79 % směs buk-dub pilin, 20 % řepkových pokrutin, 1 % sádry a roztok seleničitanu sodného.

Substráty byly hydratovány vodou na 64 %.

Sáčky se substráty byly naočkovány sadbou *H. erinaceus* kmene KZ 120. Sklizeny byly tři vlny plodnic a předčasně vytvořené plodnice v pěstebním sáčku. Dále u varianty O a S byly plodnice sklizeny v dalších dvou vývojových stádiích, a to malá plodnice (dva dny po objevení primordií) a středně veliká (pět dní po objevení primordií).

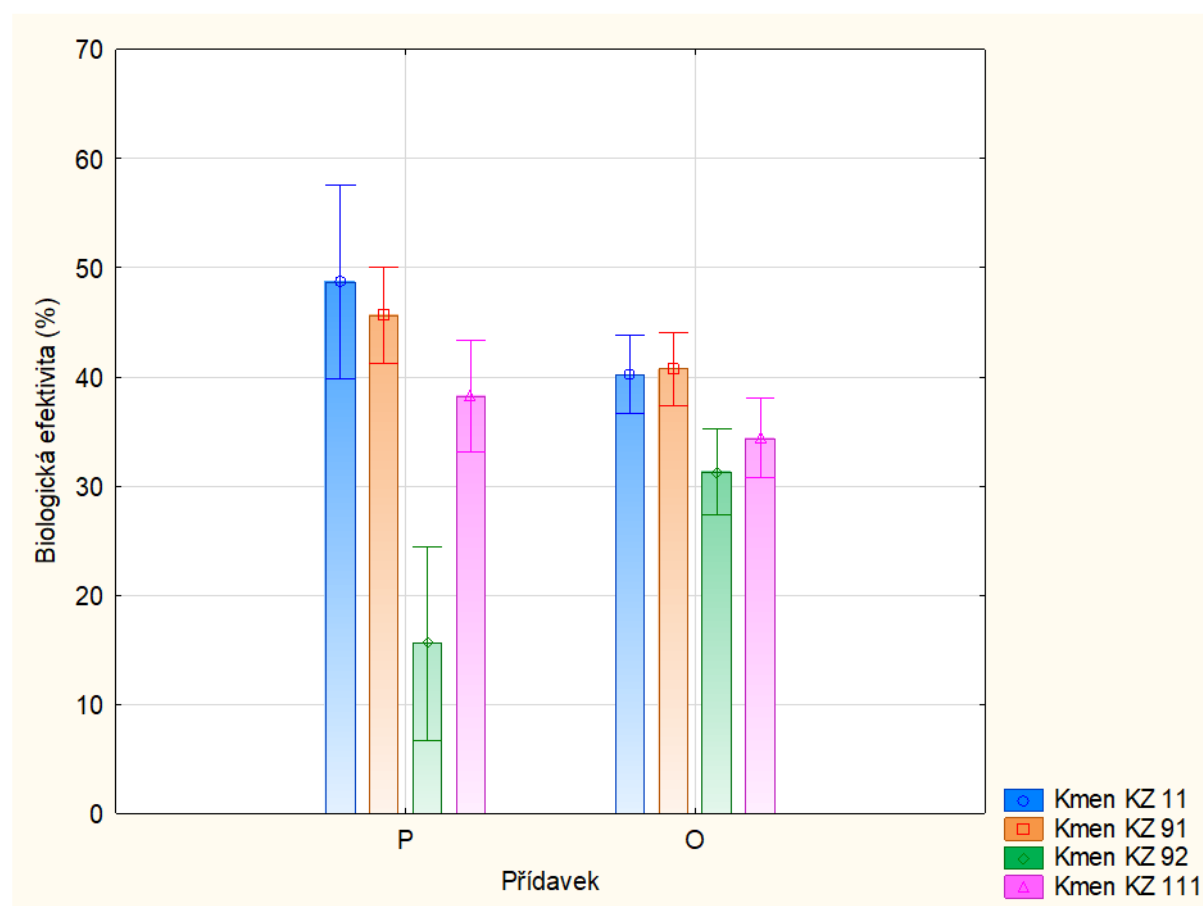
5 Výsledky

5.1 Pokus číslo 1: Kultivace vybraných kmenů korálovce na obohacených pilinách

Vliv přidavku pšeničných otrub (O) a slunečnicových pokrutin (P) na celkovou BE je znázorněn v grafu 4 a tabulce XXIV. Nejvyšší biologické efektivity za sledované období bylo dosaženo ve variantě P u kmene KZ 11, a to průměrně 48,72 %. Nejnižší biologická efektivita byla dosažena také u varianty P u kmene KZ 92 (15,57 %). Rozdíl mezi těmito variantami činil 33,15 %.

Statisticky významný rozdíl byl dosažen pouze mezi variantou P u kmene KZ 92, kdy u varianty O byl rozdíl mezi průměrnou BE 15,67 %.

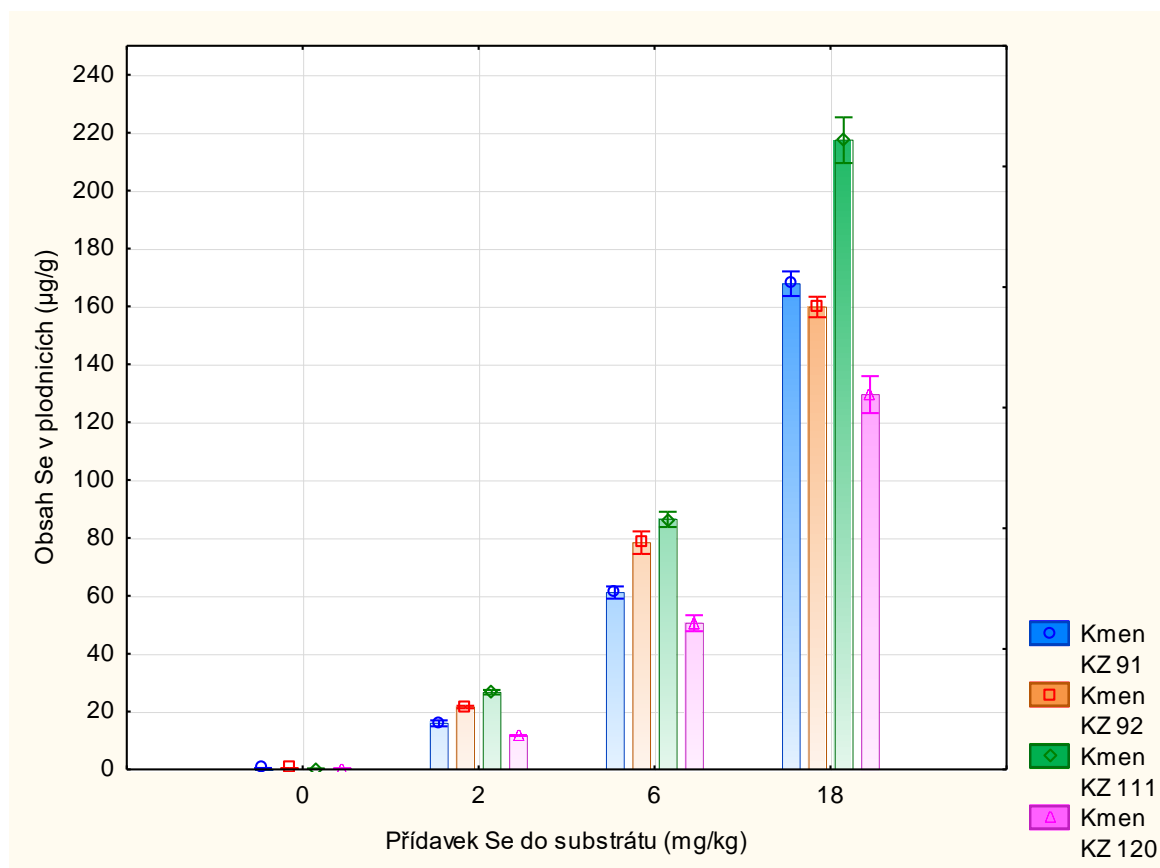
Z grafu dále vyplývá rozdíl v BE mezi jednotlivými kmeny, kdy kmen KZ 92 vycházel v obou variantách nejhůře. Obecně lze konstatovat, že slunečnicové pokrutiny mají pozitivní vliv na výnos sledovaných kmenů korálovce, s výjimkou kmene KZ 92. Zároveň u tohoto pokusu byl nízký počet opakování jednotlivých variant.



Graf 4: Vliv přidavku pšeničných otrub a slunečnicových pokrutin na celkovou BE

5.2 Pokus číslo 2: Obohacení substrátu o různém přídávku selenu

V grafu 5 a tabulce XII je znázorněn vliv působení různých dávek přídávku selenu do substrátu na výslednou koncentraci selenu v plodnicích korálovce. Z grafu je zřejmé, že s rostoucí koncentrací vzrůstal i obsah selenu v plodnicích, kdy u všech variant byl pozorován statisticky významný rozdíl. Nejnižší průměrná koncentrace selenu v plodnicích (0,27 $\mu\text{g/g}$ sušiny) byla zaznamenána u kontrolní varianty kmene KZ 111 bez obohacení a nejvyšší průměrná koncentrace (217,45 $\mu\text{g/g}$) pak u varianty s přídávkem 18 mg/kg Se rovněž kmene KZ 111. Na zvyšující se dávky nejlépe reagoval kmen KZ 111 a nejméně kmen KZ 120.



Graf 5: Vliv přídávku Se na celkový obsah selenu v plodnicích

Kontrolní varianty všech kmenů vykazovaly nejnižší koncentraci selenu v plodnicích, a to v rozmezí 0,27-0,48, kdy nejnižší byl naměřen u kmene KZ 111 a nejvyšší u kmene KZ 91.

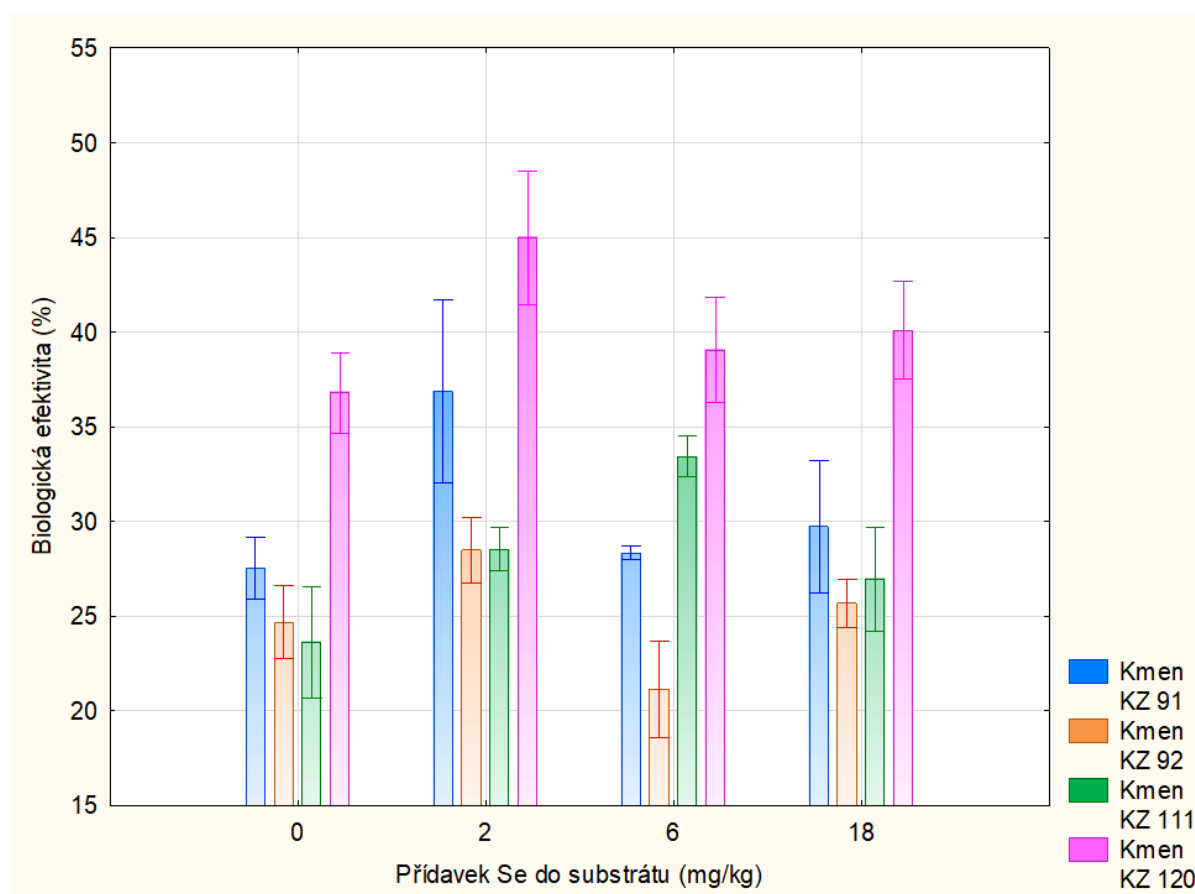
S přídávkem Se 2 mg/kg do substrátu se obsah selenu oproti kontrole zvyšoval, a to průměrně na 18,9 $\mu\text{g/g}$, kde nejvyšší obsah selenu byl u kmene KZ 111 (26,68 $\mu\text{g/g}$) a nejnižší u KZ 120 (11,7 $\mu\text{g/g}$).

Obdobný trend byl zaznamenán i u varianty s přídávkem 6 mg/kg, kde opět nejvyšší obsah měl kmen KZ 111 a nejnižší kmen KZ 120. Obsahy selenu v plodnicích se pohybovaly v rozmezí 50,51-86,41 $\mu\text{g/g}$.

U nejvyššího obohacení (18 mg/kg) dosáhl největšího rozdílu oproti kontrole (217,18 $\mu\text{g/g}$) kmen KZ 111. Na zvýšené dávky rovněž dobře reagoval kmen KZ 91 a KZ 92. Nejmenší průměrný obsah Se byl pak zjištěn u plodnic kmene KZ 120 (129,52 $\mu\text{g/g}$).

Mezi přidavkem selenu a obsahem selenu v plodnicích existuje velmi silná závislost u všech kmenů, kdy korelační koeficient (r) byl u sledovaných kmenů minimálně 0,98 a koeficient determinace (r^2) 0,97, viz grafy I a tabulka I.

Efektivita využití selenu v první vlně se pohybovala od 3,4-13,01 %. Nejvyšší byla dosažena u všech kmenů, mimo kmene KZ 92, ve variantě přidavku selenu 6 mg/kg. Nejvyšší efektivitu využití v 1. sklizňové vlně měl kmen KZ 111 (13,01 %) a KZ 120 (7,25 %), viz tabulka XXV.



Graf 6: Vliv různých dávek Se na biologickou efektivitu korálovce

Vliv dávky Se do substrátu (0, 2, 6 a 18 mg/kg) na výnos korálovce (BE) byl zkoumán u čtyřech kmenů, z nichž dva byly komerční kmeny a dva izoláty z přírody, viz graf 6 a tabulka XI. Ukázalo se, že výnos plodnic přepočítaný na biologickou efektivitu (BE) se vlivem obohacení nesnižoval. U nejnižší dávky 2 mg/kg substrátu byl dokonce u všech kmenů vyšší. Nejvyššího výnosu bylo dosaženo u kmene KZ 120.

Kontrolní varianty vykazovaly BE v rozmezí od 21,14 do 44,98 %, kde nejnižší hodnotu vykazoval kmen KZ 92 a nejvyšší kmen KZ 120.

S první obohacenou variantou se BE všech testovaných kmenů zvyšovala. V průměru nejvíce zvýšila u kmene KZ 120 o 8,2 %.

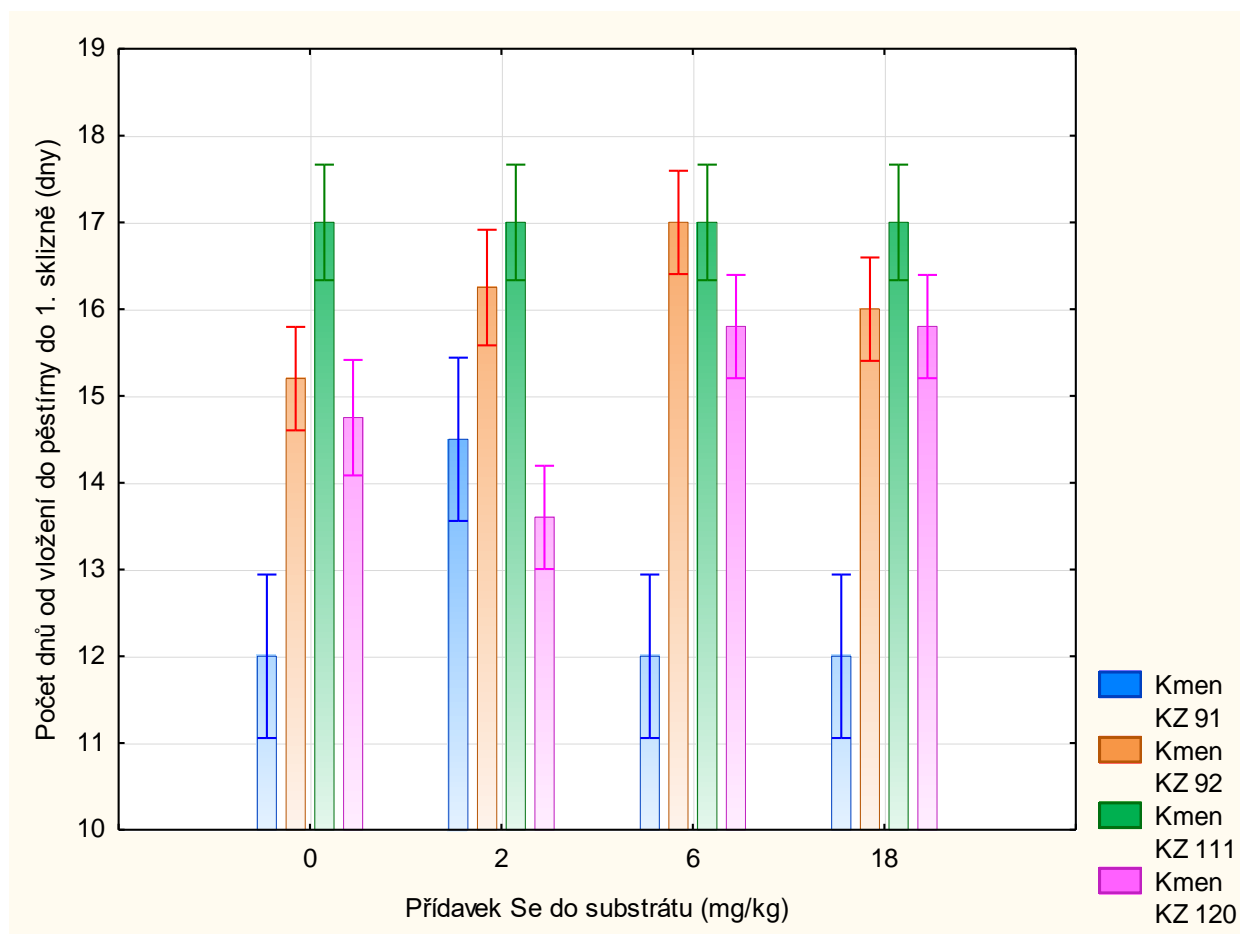
U varianty 6 mg/kg došlo u kmene KZ 92 ke snížení výnosů a zároveň bylo naměřena nejnižší BE (21,14 %) za celý pokus. Oproti tomu kmen KZ 111 se statisticky významně zvýšil výnos oproti ostatním koncentracím.

U varianty 18 mg/kg měl opět nejvyšší BE komerční kmen KZ 120 a nejnižší divoký izolát KZ 92, u kterého ale došlo ke zvýšení výnosu oproti předchozí nižší koncentraci.

Z tabulky II lze konstatovat, že výše přídatku nemá velký vliv na celkové BE, neboť u všech kmenů byla nalezena pouze velmi slabá závislost.

Byl sledován také vliv na výnos 1. a 2. vlny, viz tabulka X. Obecně největší výnosy 1. vlny měl kmen KZ 120 (nejvyšší 191,38 g) až na variantu 6 mg/kg, kde nejvyšší 1. vlnu měl kmen KZ 111 (180,74). Nejnižší výnosy 1. vlny měl kmen KZ 92 ve všech fortifikačních hladinách, nejnižší u varianty 6 mg/kg (51,83 g). Obdobně jako u celkového BE došlo k největšímu navýšení výnosů u varianty 2 mg/kg.

Výnos 2. vln je odlišný. Je zde vidět větší variabilita v rámci kmenů. Nejnižších průměrných výnosů dosahoval kmen KZ 111 (43,61-59,95 g) a nejvyšších kmen KZ 120 (102,28-132,48 g). Stejně tak jako u celkového BE a 1. vlny došlo k největšímu navýšení výnosů u varianty 2 mg/kg.

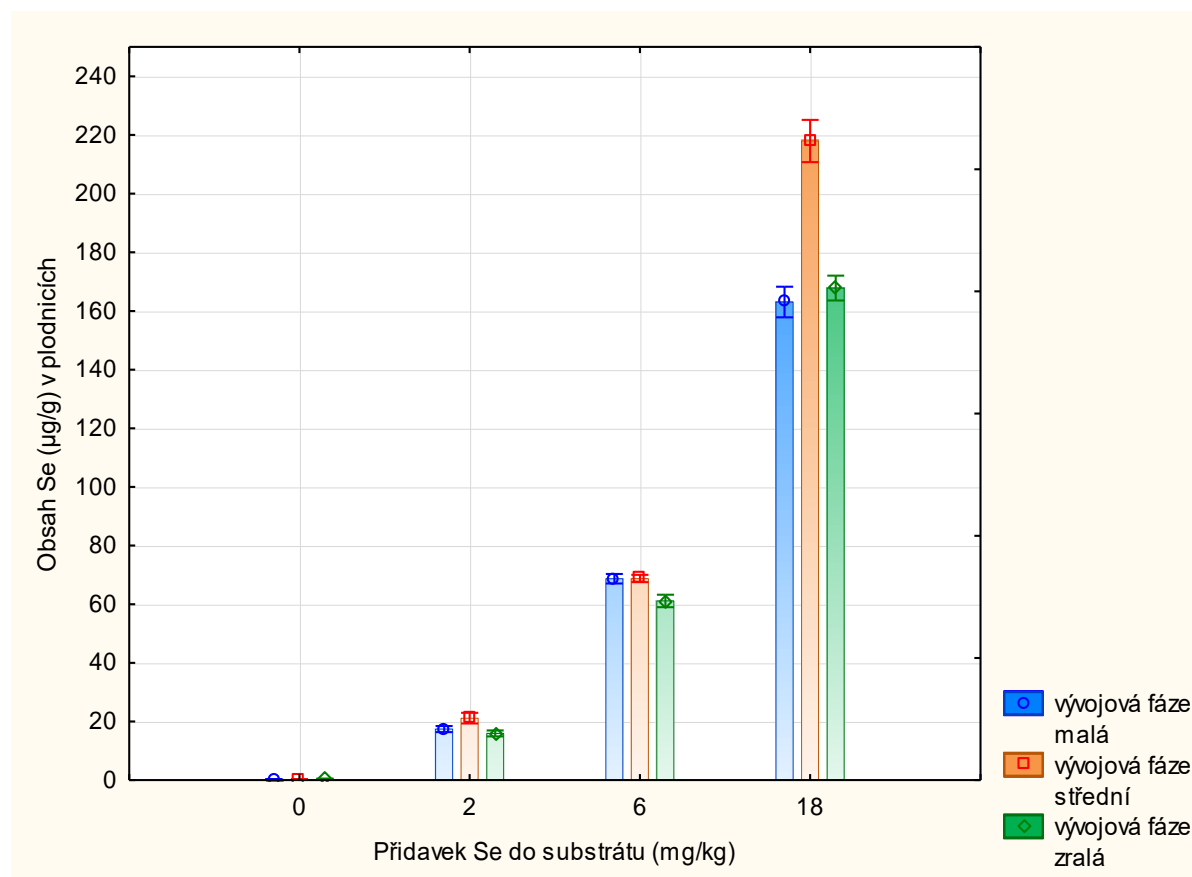


Graf 7: Vliv různých dávek Se na ranost 1. vlny plodnic

Graf 7 a tabulka XI znázorňuje počet dnů od začátku fruktifikace po sklizeň. Z výsledků pokusu vyplývá, že přídavek selenu nemá významný vliv na ranost všech čtyř kmenů korálovce. Kontrolní varianta i varianta 18 mg/kg byla v průměru sklizena mezi 12-17 dnem. Statisticky významný rozdíl 1. vlny oproti kontrole byl pozorován u kmene KZ 91 v obohacení 2 mg/kg, kdy došlo k opoždění sklizně v průměru o 2,5 dne. Velké rozdíly jsou patrné pouze v rámci kmenů. Nejranější kmen se v pokusech potvrdil kmen KZ 91 a nejpozdější byl kmen KZ 111,

kde rozdíl mezi kmeny činil okolo 5 dní ve sklizni. Z tabulky III vyplývá, že neexistuje významná závislost mezi přidavkem selenu a raností 1. vlny.

V tabulce XI můžeme také vidět vliv přídatku na ranost 2. sklizňové vlny. Kontrolní varianta byla sklizena v průměru mezi 20 a 29 dnem a varianta 18 mg/kg mezi 20 a 30 dnem. U kmene KZ 91 varianty 2 mg/kg obdobně jako u 1. vlny došlo k navýšení počtu dnů (5,5 dne) oproti kontrole. Statisticky významný rozdíl byl pozorován také u kmene KZ 120 varianty 6 mg/kg, u kterého došlo k posunutí sklizně o 3,5 dne. Druhou vlnu měl v průměru nejranější kmen KZ 91 a nejpozdnější kmen KZ 120.



Graf 8: Vliv různých dávek Se a vývojové fáze na celkový obsah Se v plodnicích kmene KZ 91

Vliv dávky selenu do substrátu a vývojové fáze na celkový obsah selenu v plodnicích kmene KZ 91 znázorňuje graf 8 a tabulka XXII. Obdobně jako u grafu 4 můžeme sledovat rostoucí obsah selenu v plodnicích se zvyšující se dávkou selenu do substrátu. U kontrolní varianty v průměru od 0,33 µg/g (střední) do 0,48 µg/g (zralá). Pro variantu 2 mg/kg 15,93 µg/g (zralá)-21,14 µg/g (střední). U varianty 6 mg/kg od 61,12 µg/g (zralá) do 68,77 µg/g (střední) a pro nejvyšší obohacení 163,05 µg/g pro malou a 217,95 µg/g pro středně velkou plodnici.

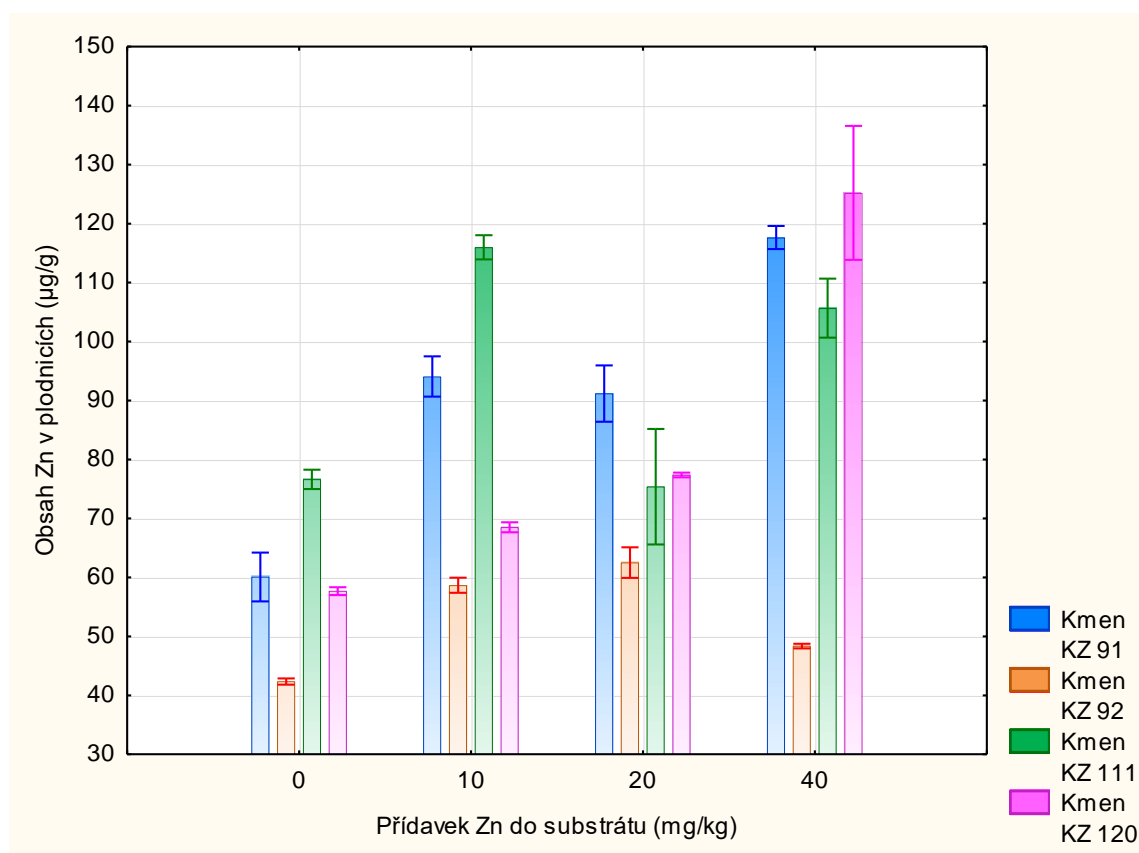
Nejvyšší obsahy selenu dosáhly plodnice ve střední vývojové fázi, s výjimkou kontroly. Z grafu 6 vyplývá, že se v koncentracích 0-6 mg/kg nedošlo k velkému rozdílu naměřených obsahu Se. Největší rozdíl byl pozorován u nejvyšší fortifikační hladiny, kde rozdíl mezi nejvyšší a nejvyšší naměřenou hodnotou byl 54,9 µg/g Se.

Pěstované kmeny korálovce se lišily také barvou. Kmen KZ 92 byl vždy čistě bílý, nicméně ostatní kmeny byly v mladších vývojových fázích narůžovělé, kdy s rostoucí

koncentrací Se se růžová barva zvyšovala. Zároveň, když plodnice zrály, tak růžová bledla. Obdobný průběh byl i u následujících pokusů.

5.3 Pokus číslo 3: Obohacení substrátu o různém přídávku zinku

V grafu 9 a tabulce XIV je znázorněn vliv působení různých dávek Zn do substrátu na výslednou koncentraci zinku v plodnicích korálovce. Nejnižší průměrná koncentrace zinku v plodnicích (42,35 $\mu\text{g/g}$ sušiny) byla zaznamenána u kontrolní varianty kmene KZ 92 bez obohacení a nejvyšší průměrná koncentrace (125,22 $\mu\text{g/g}$) pak u varianty s přídávkem zinku 40 mg/kg u kmene KZ 120. Na zvyšující se dávky nejlépe reagoval kmen KZ 120 a nejméně kmen KZ 92.



Graf 9: Vliv přídávku Zn na celkový obsah zinku v plodnicích

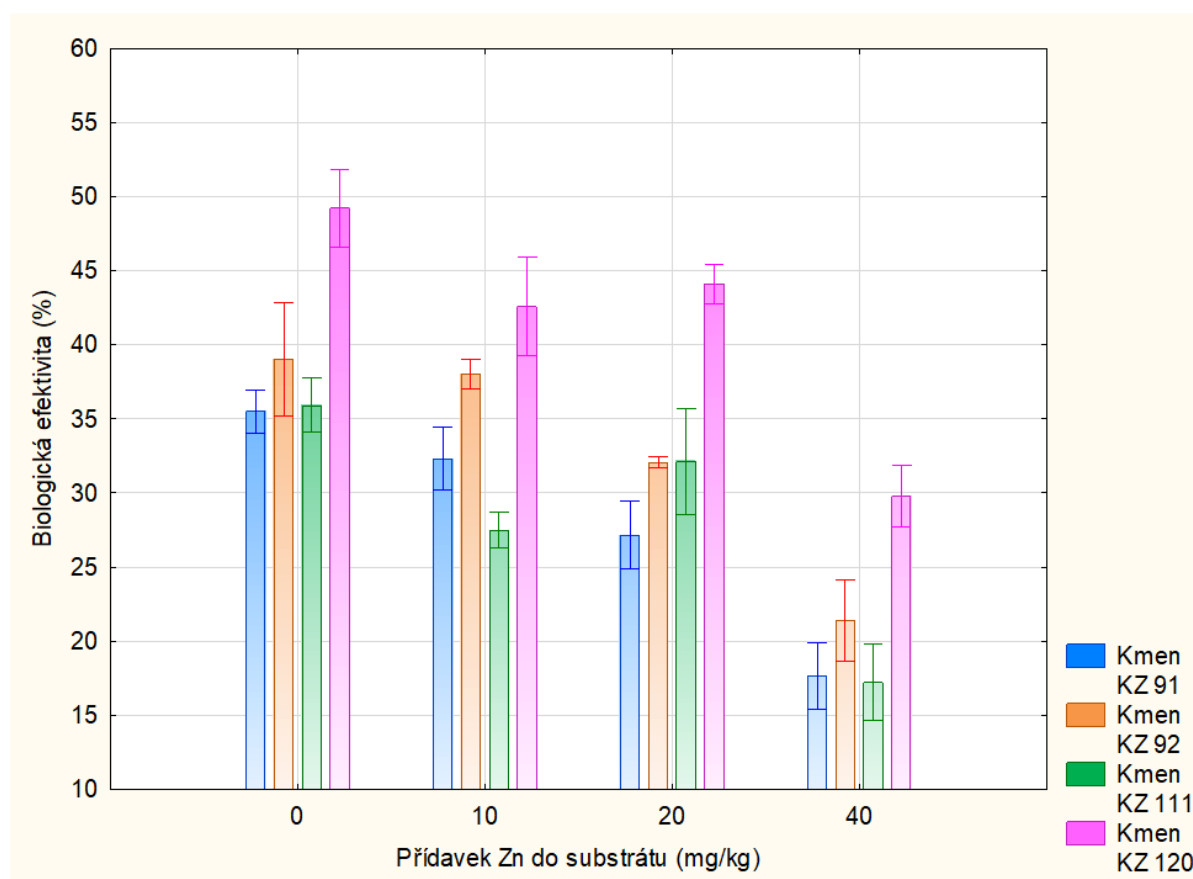
Kontrolní varianty všech kmenů vykazovaly nejnižší koncentraci zinku v plodnicích, a to v rozmezí 42,35-105,67, kdy nejnižší byl naměřen u kmene KZ 92 a nejvyšší u kmene KZ 111.

S přídávkem ZnSO_4 na 10 mg/kg substrátu se obsah zinku oproti kontrole zvyšoval. Nejvyšší obsah zinku byl u kmene KZ 111 (115,99 $\mu\text{g/g}$) a nejnižší u KZ 92 (58,67 $\mu\text{g/g}$).

U varianty 20 mg/kg došlo k nepatrnému zvýšení obsahu jen u kmenů KZ 92 a KZ 120. Kmeny KZ 91 a KZ 111 byly negativně ovlivněny. Nejvyšší obsah dosáhl kmen KZ 91 (91,18 $\mu\text{g/g}$).

U nejvyššího obohacení (40 mg/kg) dosáhl největšího rozdílu oproti kontrole (67,54 $\mu\text{g/g}$) kmen KZ 120. Na zvýšené dávky rovněž dobře reagoval kmen KZ 91 a KZ 111. Nejmenší průměrný obsah Se byl pak zjištěn u plodnic kmene KZ 92 (48,35 $\mu\text{g/g}$).

Mezi přidavkem Zn a obsahem zinku v plodnicích existuje velmi silná závislost u kmenů KZ 91 ($r=0,89$ a $r^2=0,8$) a KZ 120 ($r=0,93$ a $r^2=0,87$), viz grafy II a tabulka IV. U zbylých kmenů nebyla nalezena silná závislost. Efektivita využití zinku v první vlně se pohybovala od 0,36-6,35 %. Nejvyšší byla dosažena u varianty přidavku 10 mg/kg, a to u všech sledovaných kmenů. Nejvyšší efektivitu využití v 1. sklizňové vlně měl kmen KZ 120 (6,35 %) a KZ 121 (6,1 %), viz tabulka XXV. Nejnižší bylo sledováno u nejvyšší varianty 40 mg/kg, okolo 0,5 %.



Graf 10: Vliv přidavku Zn na celkovou BE

Vliv dávky přidavku zinku do substrátu (0, 10, 20 a 40 mg/kg) na výnos korálovce byl zkoumán u čtyřech kmenů, viz graf 10 a tabulka XIII. Je zřejmé, že výnos plodnic přepočítaný na biologickou efektivitu (BE) se vlivem obohacení snižoval. Nejvyššího výnosu bylo dosaženo u kmene KZ 120 obdobně jako u fortifikace selenem.

Kontrolní varianty vykazovaly BE v rozmezí od 35,5 do 49,23 %, kde nejnižší hodnotu vykazoval kmen KZ 91 a nejvyšší kmen KZ 120.

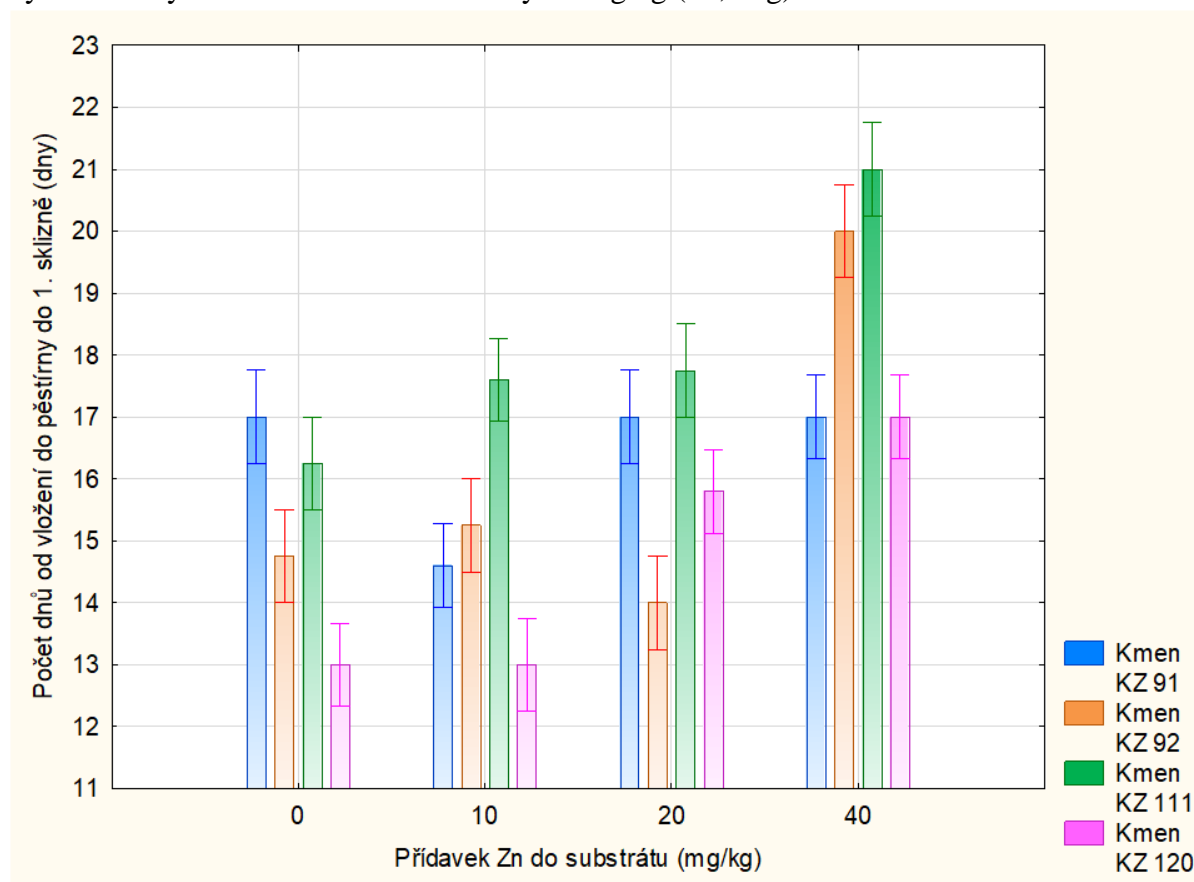
S první obohacenou variantou se BE všech testovaných kmenů snižovala, kde se v průměru nejvíce zvýšila u kmene KZ 111 o 8,42 %.

U varianty 20 mg/kg došlo u kmenů KZ 111 a KZ 120 ke statisticky nevýznamnému zvýšení a u kmenů KZ 91 a KZ 92 ke statisticky významnému snížení BE.

U nejvíce obohacené varianty 40 mg/kg $ZnSO_4$ měl nejvyšší BE kmen KZ 120 a nejnižší KZ 111. U této koncentrace byla pozorována statisticky významná nejnižší BE všech kmenů. Nejnižší BE za celý pokus měl kmen KZ 111 (17,21 %) a KZ 91 (17,63 %).

Z tabulky V lze konstatovat, že míra přídatku má ve vyšších koncentracích zásadní vliv na celkovou BE. U všech kmenů byla nalezena silná nebo velmi silná závislost mezi přídatkem a BE. Nejvíce závislý s korelační koeficient $-0,84$ měl kmen KZ 91 a KZ 92 s $r^2=0,71-0,75$.

Byl sledován také vliv na výnos 1. a 2. vlny, viz tabulka XIII. Největší výnosy 1. vlny dosáhl kmen KZ 120 u kontrolní varianty (246,59 g) až na variantu 40 mg/kg, kde nejvyšší 1. vlnu měl kmen KZ 111 (60,75 g). Nejnižší výnos 1. vlny měl kmen KZ 91 varianty 40 mg/kg (42,38 g). Průměrný výnos kontrolní varianty kmenů byl 133,99-246,59 g a u varianty 40 mg/kg 42,38-60,75 g. Výnos 2. vlny je odlišný. Obdobně jako u fortifikace selenem je zde vidět větší variabilita v rámci kmenů. Největší výnos v obohacení 0 a 10 mg/kg měl kmen KZ 92 (135,13 a 146,5 g) a v obohacení 20 a 40 mg/kg kmen KZ 120 (130,8 a 169,18 g). Nejnižší výnos 2. vlny měl kmen KZ 111 varianty 40 mg/kg (63,16 g).



Graf 11: Vliv přídatku Zn na ranost 1. vlny

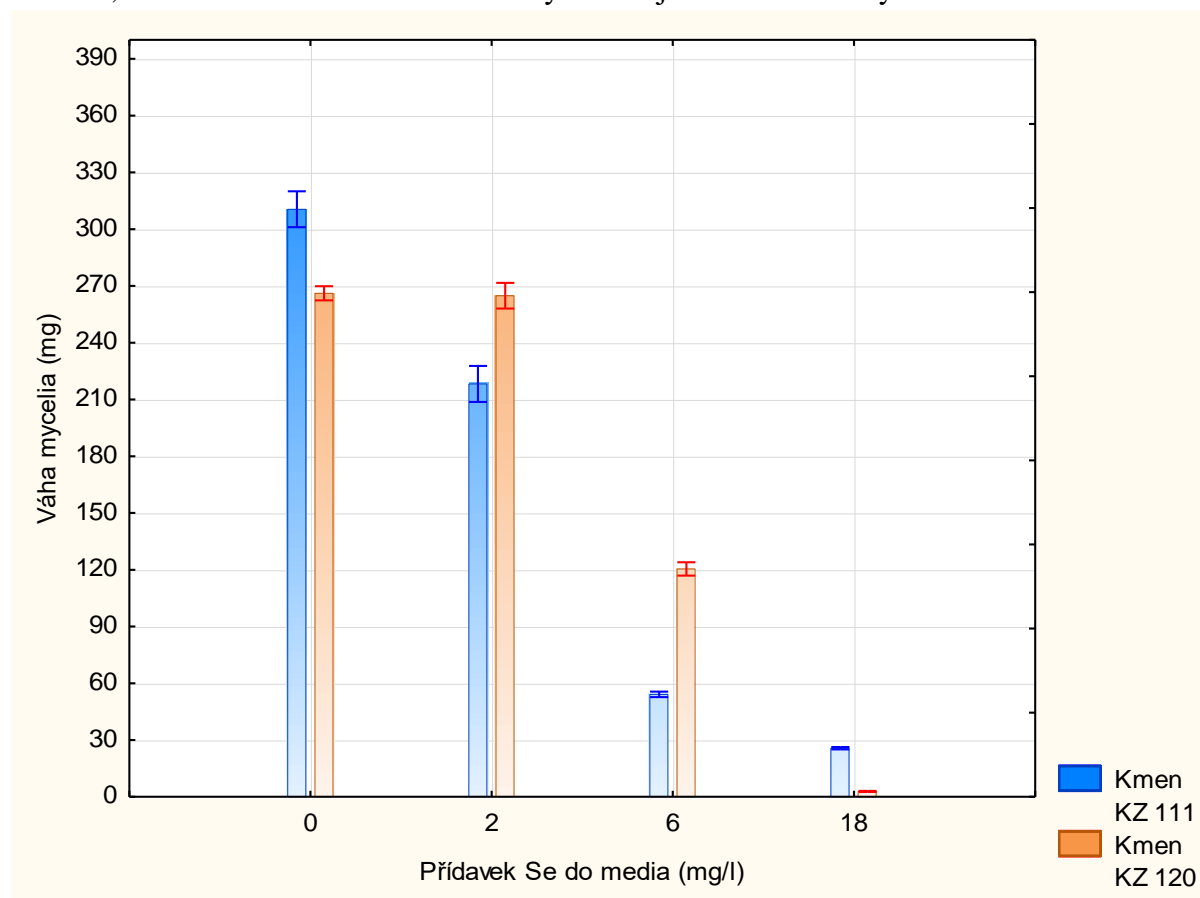
Graf 11 a tabulka XIII znázorňuje počet dnů od začátku fruktifikace po sklizeň. Kontrolní varianta byla sklizena v průměru mezi 13. a 17. dnem. Varianta 40 mg/kg byla pak sklizena mezi 17. a 21. dnem. Statisticky významný rozdíl ranosti 1. vlny oproti kontrole byl u vyšších koncentrací přídatku, převážně u varianty 40 mg/kg. Rozdíl u kmene KZ 120 tvořil 4 dny, KZ 111 4,75 dne a KZ 91 5,25 dne. Nejranější kmen 1. vlny byl KZ 92 a KZ 91. Z tabulky VI a grafu IV vyplývá, že existuje statisticky významná střední závislost mezi obsahem $ZnSO_4$ a raností 1. vlny u kmene KZ 92 ($r=0,69$) a KZ 111 ($r=0,66$) a silná závislost u kmene KZ 120 ($r=0,87$) s koeficientem determinace pro všechny kmene v rozmezí 0,05-0,75. Na obrázku IX v přílohách je vidět posunutá doba fruktifikace kmene KZ 120, kdy na horních policích je kontrolní varianta a na dolních varianta 40 mg/kg.

V tabulce XIII můžeme také vidět vliv přídatku na ranost 2. sklizňové vlny. Kontrolní varianta byla v průměru sklizena v rozmezí 24,8-27,25 dnů od vložení do pěstírny. Varianta 40 mg/kg byla sklizena v rozmezí 26,8 a 35 dnů. Obdobně jako u 1. vlny byly nejvíce ovlivněny varianty s nejvyšší hladinou fortifikace. Nejvíce negativně ovlivněným kmenem byl KZ 111, který byl u varianty 40 mg/kg nejpozdější (35 dní do sklizně) oproti kontrole (27,25 dne). Nejranější ve všech variantách průměrně byly kmeny KZ 91 a KZ 92 až na variantu 10 mg/kg, kde byl nejranější kmen KZ 120 (23,75 dne).

5.4 Pokus číslo 4: Submerzní kultivace dvou kmenů korálovce

V grafu 12 a tabulce XVII můžeme vidět vliv různých dávek selenu na hmotnost mycelia kmenů KZ 111 a KZ 120. Je dobře patrné, že se zvyšující se dávkou klesala hmotnost mycelia testovaných kmenů. Největší hmotnost měly kontrolní varianty 310,55 mg (KZ 111) a 266,10 mg (KZ 120). Nejnižší pak u koncentrace 18 mg/l 25,65 mg (KZ 111) a 2,83 mg (KZ 120). Největší rozdíl byl dosažen u kmene KZ 111 a to 284,9 mg mezi K a 40 mg/l. Z přílohy VIII a grafu V je patrné, že mezi dávkou selenu a výnosem mycelia je statisticky významná velmi silná závislost ($r=-0,83$ pro KZ 111 a $-0,96$ pro KZ 120) s koeficientem determinace 0,69-0,92.

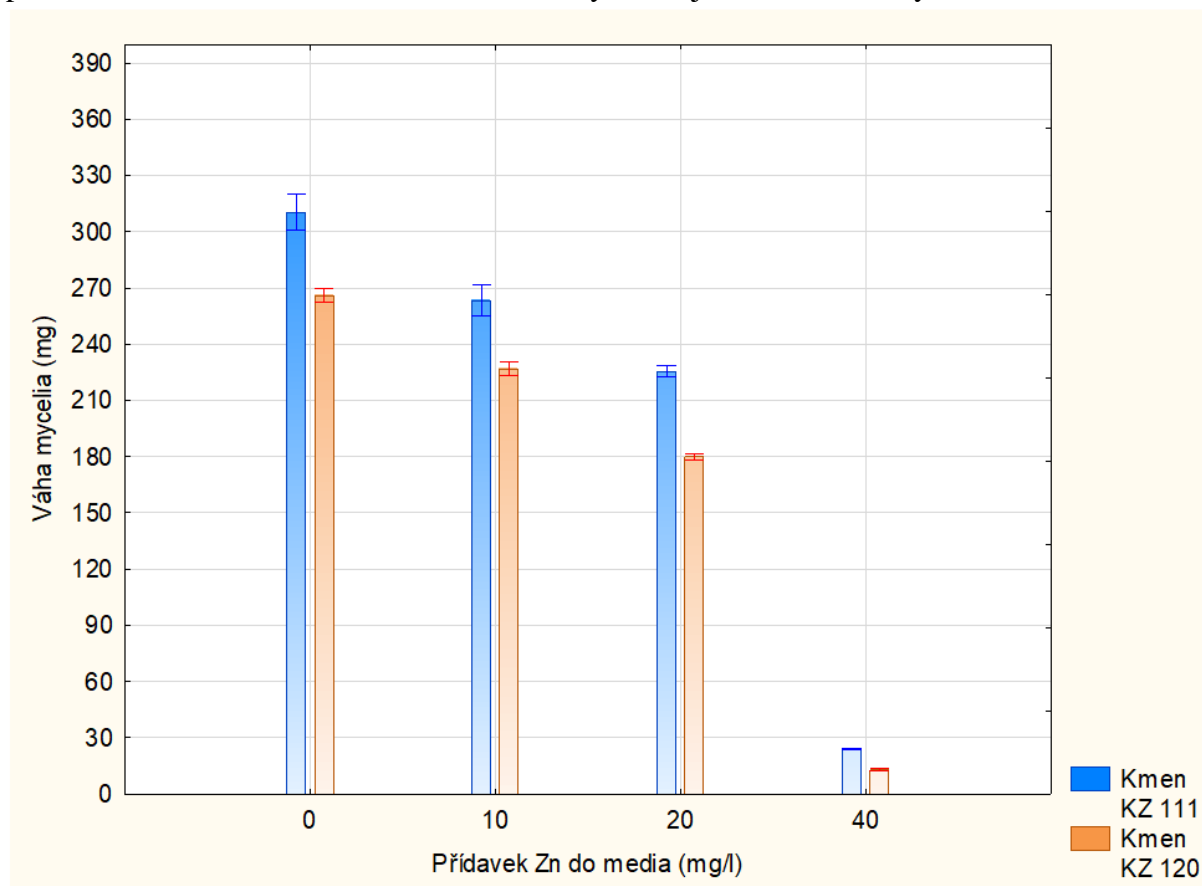
Obsah selenu v myceliu u kontrolních variant byl 0,19 $\mu\text{g/g}$ pro KZ 111 a 0,06 $\mu\text{g/g}$ pro KZ 120, viz tabulka XVIII. Ostatní obsahy selenu jsou zkrácené chybou.



Graf 12: Vliv různých dávek Se na hmotnost mycelia korálovce

V grafu 13 a tabulce XIX můžeme vidět vliv různých dávek Zn na hmotnost mycelia kmenů KZ 111 a KZ 120. Je dobře patrné, že se zvyšující se dávkou klesala hmotnost mycelia testovaných kmenů obdobně jako u obohacení selenem. Největší hmotnost měly kontrolní varianty 310,55 mg (KZ 111) a 266,10 mg (KZ 120). Nejnižší pak u koncentrace 40 mg/l 24,1 mg (KZ 111) a 12,85 mg (KZ 120). Největší rozdíl byl dosáhnout u kmene KZ 111 a to 286,45 mg mezi K a 40 mg/l. Z přílohy VII a grafu V je patrné, že mezi dávkou zinku a výnosem mycelia je statisticky významná velmi silná závislost ($R=-0,97$ pro KZ 111 a $-0,98$ pro KZ 120), kde $r^2=0,94-0,97$.

Obsah selenu v myceliu u kontrolních variant byl 0,41,35 $\mu\text{g/g}$ pro KZ 111 a 45,8 $\mu\text{g/g}$ pro KZ 120, viz tabulka XVIII. Ostatní obsahy zinku jsou zkrácené chybou.



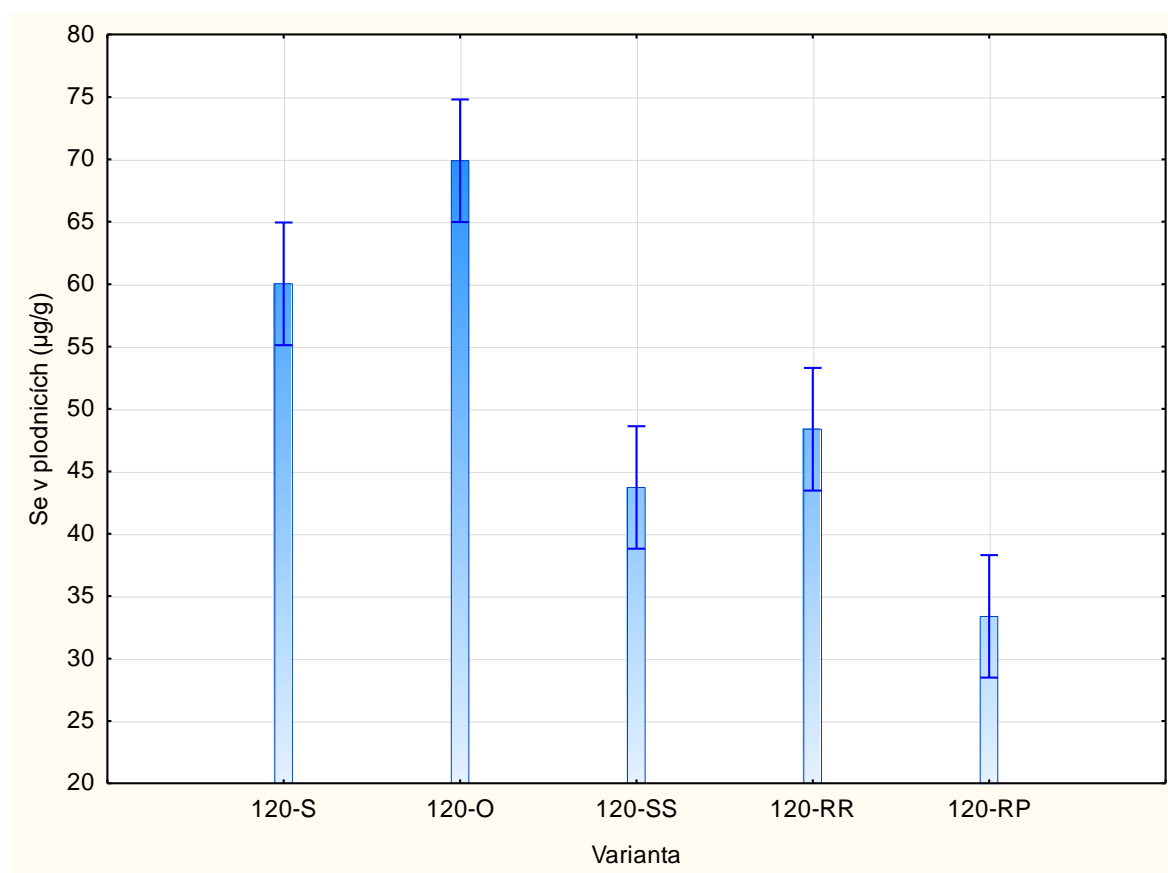
Graf 13: Vliv různých dávek Zn na hmotnost mycelia korálovce

V grafu VII a VIII v přílohách je vidět rozdíl v absorpenci při 600 nm. Počáteční absorpance se pohybovala okolo 0,1. U variant s přídavkem zinku docházelo ke snížení až do koncentrace 20 mg/l, a to na hodnotu okolo 0,6 pro oba kmene. Varianta 40 mg/kg vykazovala u kmenů značné rozdíly, kdy u kmene KZ 111 byla absorpance 0,15 a u kmene KZ 120 pouze 0,02.

Při přídavku selenu bylo chování kmenů velice odlišné. Po přidání 2 mg/l selenu tak se absorpance kmene KZ 120 zvýšila (0,12) a u kmene KZ 111 snížila (0,06). U přídavku 6 mg/l byl u kmene KZ 120 pozorován pokles (0,04) a druhého kmene zvětšení (0,08). S nejvyšší koncentrací ovšem absorpance klesly u obou a oproti kontrole a to na 0,05-0,08. Mycelia a změna barvy kultivačního roztoku do červeno hnědé barvy je zobrazena v obrázcích XI-XIV.

5.5 Pokus číslo 5: Různé přídavky do substrátu

Graf 14 a tabulka XVI znázorňuje vliv různých přídavku na obsah Se v plodnicích kmene KZ 120 s hladinou fortifikace 6 mg/kg. Testován byl vliv přídavku SS (sójové slupky) O (otruby), RP (řepkové pokruty), RR (řepné řízky), S (mláto). Nejvyšší obsah selenu v sušině (69,89 µg/g) plodnic dosahovala varianta O, která byla zvolena jako kontrolní varianta, a nejnižší (48,38 µg/g) varianta RP. Oproti variantě O byl nalezen statisticky významný rozdíl u varianty SS, RP a RR. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší koncentrací činil (21,51 µg/g). Po vynechání odlehle hodnoty (u varianty RR) byla nalezena velmi silná závislost mezi poměrem C/N a obsahem selenu v plodnici ($r=0,9$ a $r^2=93$). Z tabulky XXVII v přílohách můžeme vyčíst, že nejvyšší efektivitu využití přídavku selenu v 1. vlně měla varianta SS (18,68 %) a nejhorší RP (7,56 %).

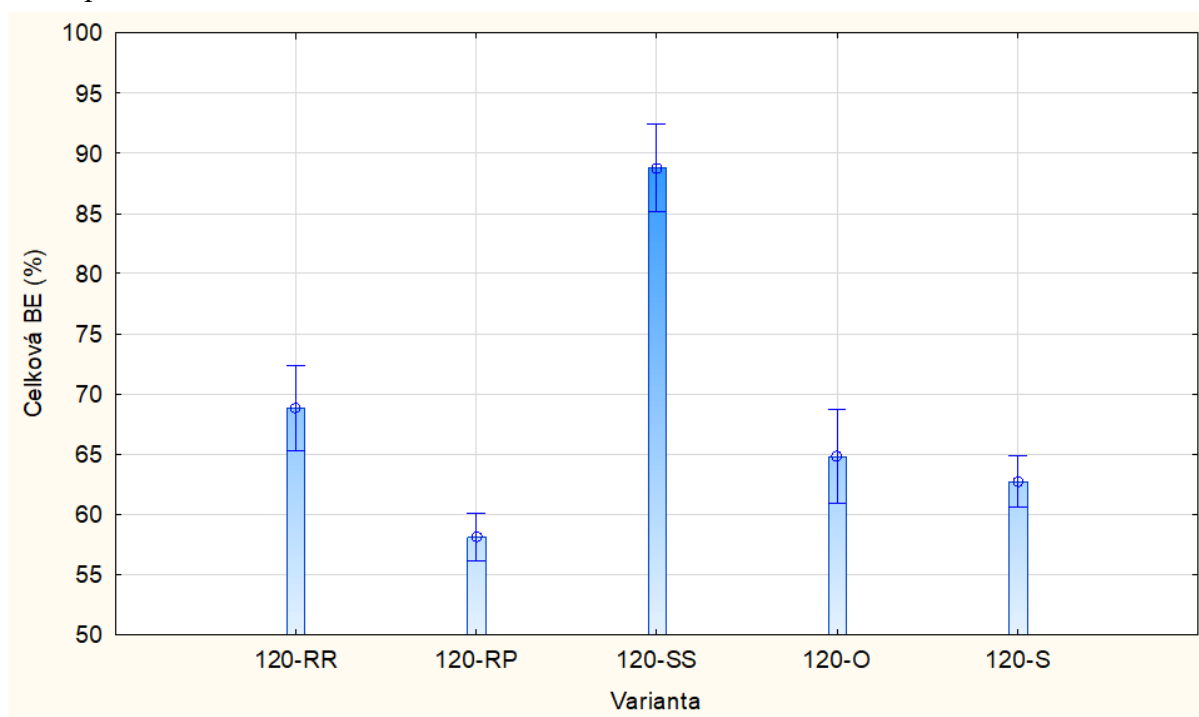


Graf 14: Vliv různých přídavku na obsah Se v plodnicích kmene KZ 120

Graf 15 a tabulka XV znázorňují vliv různých přídavku na BE kmene KZ 120. Biologická efektivita se pohybovala v rozmezí 58,07-88,83 %. Z dat je vidět, že statisticky významný rozdíl oproti kontrole (varianta O) byl pouze u přídavku řepkových pokrutin a sójových slupek, což koreluje s nejvyšším výnosem v 1. a 3. vlně. Nicméně zde nalezena korelace mezi poměrem C/N a BE.

Přídavek pšeničných otrub vykazoval nejrychleji tvořící se plodnice, to je vidět v největší biomase během inkubace v sáčku, ale také na samotných sklizňových vlnách. Nejpomalejší pak byly varianty RR a RP.

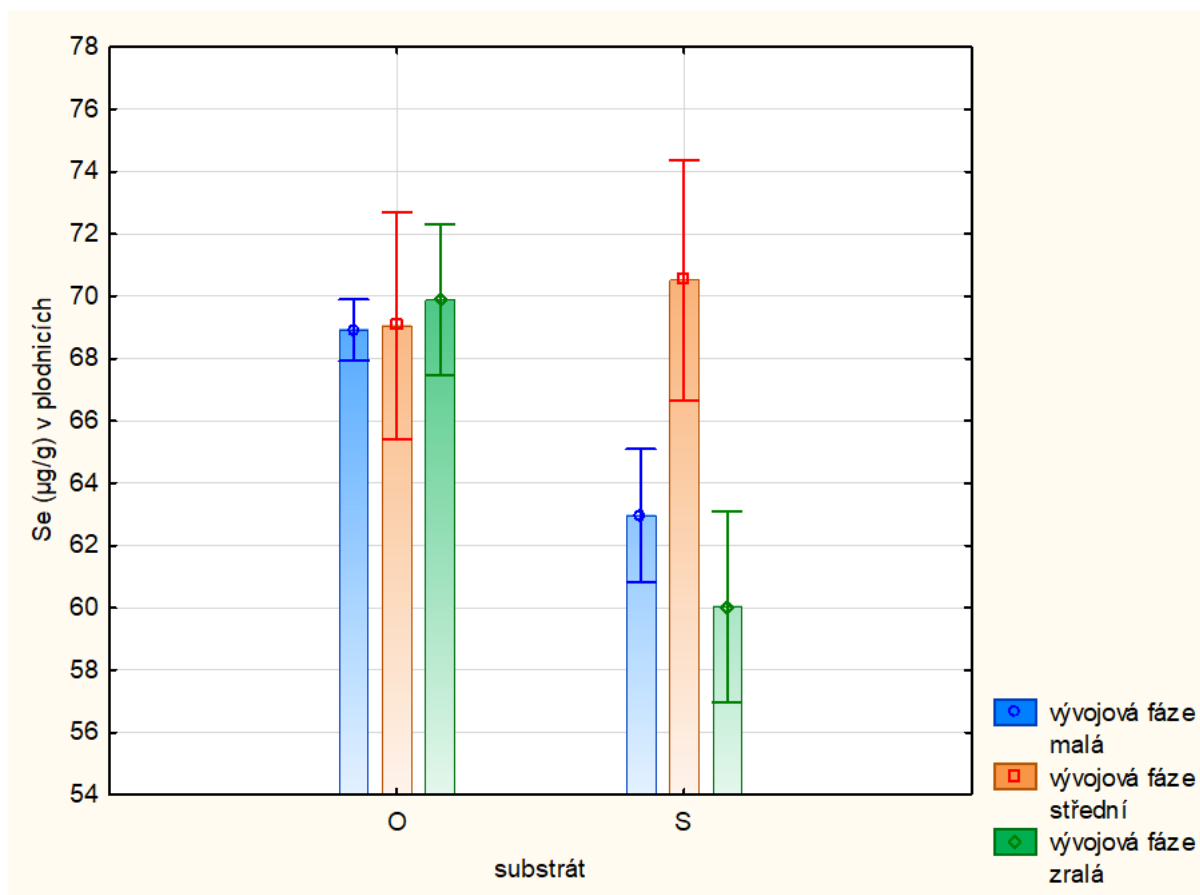
Samotné plodnice se morfologicky vlivem přídavku v 1. vlně nijak zásadně nelišily, nicméně u 2. a 3. vlny varianty RR docházelo ke ztracení kompaktnosti plodnic viz obrázek XV v přílohách.



Graf 15: Vliv různých přídavku na celkovou BE kmene KZ 120

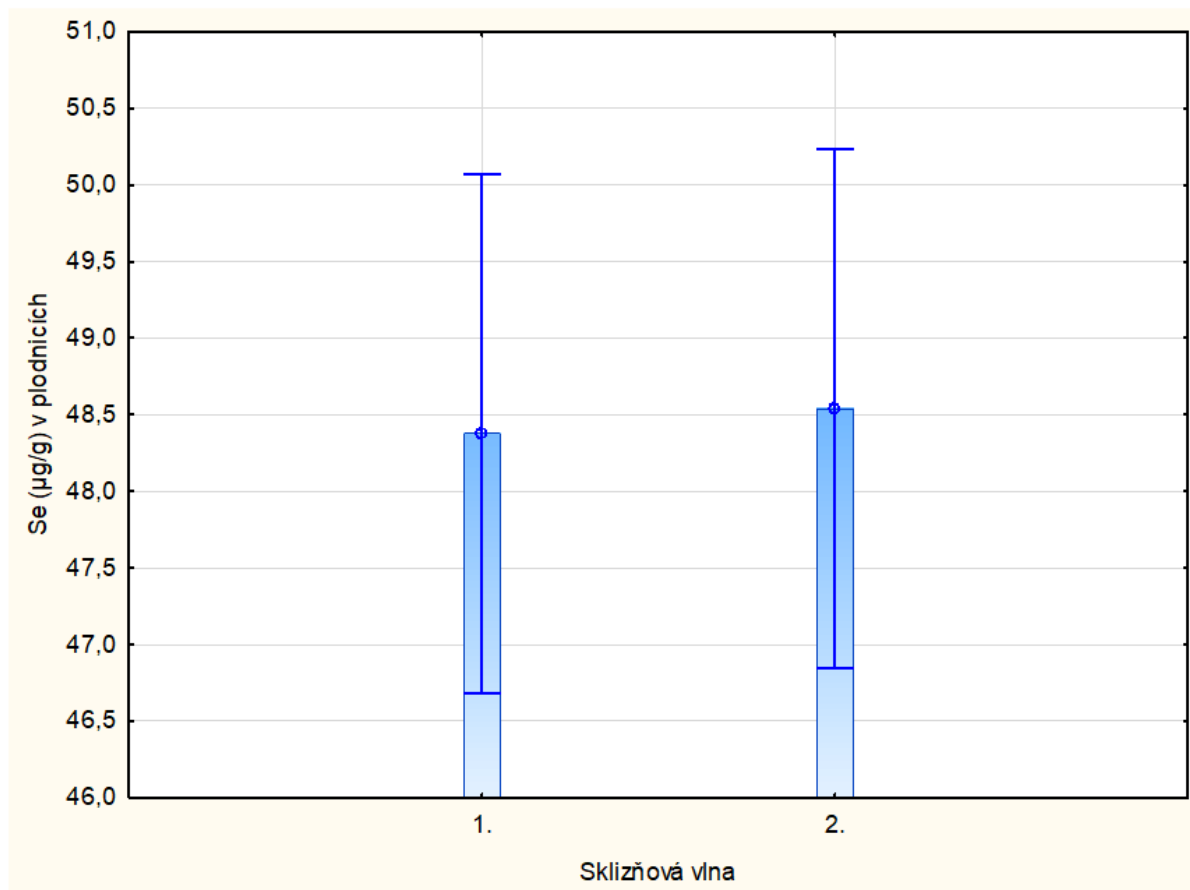
Graf 16 a tabulka XXI znázorňují vliv různých přídavku a vývojové fáze na obsah Se v plodnicích kmene KZ 120. Největší průměrný obsah Se byl dosáhnout u střední vývojové fáze plodnice u substrátu S (mláto), a to 70,52 $\mu\text{g/g}$ a nejnižší u stejné varianty zralé plodnice (60,03 $\mu\text{g/g}$).

U varianty O (pšeničné otruby), použité jako kontrola, nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými vývojovými fázemi plodnic, které měly průměrně 68,91-69,89 $\mu\text{g/g}$. U druhé varianty s mlátem se obsah mezi jednotlivými fázemi vývoje lišil.



Graf 16: Vliv různých přídatku a vývojové fáze na obsah Se v plodnicích kmene KZ 120

Graf 17 a tabulka XXII popisují vliv sklizňové vlny na obsah Se v plodnicích kmene KZ 120 varianty RR. Je patrné, že obsah selenu se v závislosti na sklizňovou vlnu neměnil. U 1. vlny se obsah průměrně pohyboval 48,38 µg/g a u 2. vlny 48,54 µg/g a nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl.



Graf 17 Vliv sklizňové vlny na obsah Se v plodnicích kmene KZ 120 varianty RR

6 Diskuze

U všech výše zmíněných pokusů byla celková BE (biologická efektivita) a doba nasazení plodnic korálovce v časovém rozmezí v souladu s celou řadou autorů Ko et al. (2005a), Siwulski & Sobieralski (2005), Figlas et al. (2007), Rodrigues et al. (2015), Atila (2019), Atila et al. (2021) a Fan et al. (2021). Jedinou výjimku tvořil pokus s obohacováním síranem zinečnatým, kdy oproti výše zmíněným autorům bylo výrazně snížena BE při vyšších koncentracích.

6.1 Porovnání čtyř kmenů korálovce na substrátech obohacených různými přísadkami

V pokusu číslo 1, který byl zároveň předpokusem chování růstu korálovce čtyř kmenů byl sledován vliv přísadky pšeničných otrub (O) a slunečnicových pokrutin (P) na celkovou BE. Různé kmeny reagovaly na typ přísadky různě. Nejvyšší biologické efektivity dosahovala varianta P, až na kmen KZ 92, zatímco nejvíce stabilních výnosů dosáhla varianta O. Příčinou vyššího výnosu může být vyšší obsah N a S nebo vliv dalších látek obsažených ve slunečnicových pokrutinách, které obsahují i velké množství samotných slunečnicových slupek, které autoři Figlas et al. (2007) vyhodnotili jako vhodný substrát pro pěstování korálovce. Atila (2019) nenalezl korelaci mezi vyšším obsahem N s vyšším výnosem, ale pozitivní závislost mezi obsahem ligninu a výnosem, kdy ve slunečnicových slupkách je ligninu oproti otrubám více. Nicméně autoři Fan et al. (2021) u substrátů složených primárně z pilin a větviček moruše našli pozitivní závislost mezi úzkým poměrem C/N a výnosem.

Z výsledků tohoto pokusu vyplývá, že korálovec ježatý se oproti ostatním pěstovaným houbám, jako je například hlíva ústříčná, liší nároky na dodržování hygienických postupů při výrobě substrátu a sadby. Většina pěstebních bloků (převážně variant P) se během prorůstání kontaminovala, a tak nebyl dodržen optimální počet opakování (u některých variant pouze 1 opakování) a výsledky nejsou tedy průkazné. Důvodem kontaminace mohlo být také horší zrnitostní složení substrátu, kdy u varianty P byl přísadek mnohem jemnější a mohl zamezit přístupu vzduchu v substrátu a navození anaerobních podmínek, což vedlo k inhibici růstu mycelia korálovce, ale vyhovovalo ostatním konkurenčním mikroorganismům. To koresponduje s autory Gregory et al. (2012) a Atila et al. (2018), kteří obdobný jev zaznamenali u substrátu s namletými olivovými výlisky, které se zrnitostním složením podobaly slunečnicovým pokrutinám.

6.2 Sledování vlivu obohacení substrátu různými koncentracemi Na_2SeO_3 na výnos a obsah Se v plodnicích

V tomto pokusu byl zkoumán vliv působení různých dávek Se ve formě Na_2SeO_3 do substrátu na výslednou koncentraci selenu v plodnicích a růstové parametry. Ukázalo se, že existuje silná závislost ($r=0,98$) mezi přidaným Se do substrátu a obsahem Se v plodnicích a variabilita akumulace mezi kmeny. Toto potvrzuje i celá řada autorů, Zhao et al. (2004) na *Ganoderma lucidum*, de Oliveira & Naozuka (2019) na *P. djamor* a *P. ostreatus*, Rodriguez Estrada et al. (2009) na *P. eryngii* var *eryngii* nebo Niedzielski et al. (2014) na *A. aegerita*,

G. lucidum a *H. erinaceus*. V pokusech Jablonský et al. (2022) byly testovány další druhy hub při stejných fortifikačních hladinách, kdy v porovnání s hlívou ústříčnou bylo dosaženo menšího obsahu selenu v plodnicích, v průměru skoro o polovinu, ale u *Lentinula edodes* a 3 druhů lesklokorek bylo dosaženo vyššího obsahu, u lesklokorek skoro o dvojnásobek. U korálovce Hu et al. (2020) stanovili nejvyšší koncentrace Se v plodnicích na 111,8 µg/g (při obohacení seleničitanem 40 µg/g), oproti nejvyšší koncentraci stanovené v této práci (217 µg/g). Důvodem je nejspíš specifická schopnost daného kmene korálovce absorbovat selen. Dále byla hodnocena efektivita využití přídatku v 1. vlně. Bylo zjištěno, že nejvíce selenu ze substrátu akumulovaly kmeny při obohacení 6 mg/kg. Poznatky o efektivitě využití selenu v různých koncentracích nebyly v literatuře nalezeny a do budoucna by se mohlo jednat o jeden z důležitých faktorů při výběru kmene a jeho pěstování, neboť se jedná o produkční ukazatel.

Z tohoto lze usoudit, že použité kmeny korálovce by do budoucna mohly být využity při biofortifikaci selenem a nabízeny například jako doplněk stravy. Podle Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) mohou dospělí dosáhnout dostatečné dávky selenu příjmem 70 µg selenu na den (EFSA 2014). U hlívy ústříčné se uvažuje o plnění kapslí na hmotnost 300 mg (Jablonský et al. 2022). Pokud by bylo použito stejné množství korálovce při hladině obohacení selenem v koncentraci 18 mg/kg substrátu, jehož plodnice v průměru všech kmenů obsahovaly 168 µg Se/g, tak by výsledná kapsle obsahovala 50,4 µg Se, což je 72 % denního příjmu selenu.

Pozorována byla také biologická efektivita jednotlivých variant obohacení. Se zvyšující se koncentrací nebylo pozorováno statisticky významné snížení BE, což potvrzují i autoři de Oliveira & Naozuka (2019) na testovaných fortifikačních hladinách 6,4; 12,8 a 25,6 µg/g (Se^{IV}) a Rodriguez Estrada et al. (2009) na 0,5 a 10 µg/g Se. Naopak stimulační efekt měla varianta s přídatkem 2 mg/kg, kde bylo pozorováno zvýšení BE, to koresponduje s autory Savić et al. (2009), kteří pozorovali stimulaci růstu při aplikaci nižších koncentrací přídatku seleničitanu sodného. Také u autorů de Oliveira & Naozuka (2019) bylo naměřeno nepatrné navýšení BE. Toto zvýšení bylo statisticky průkazné pouze u kmene KZ 120 a poukazuje na variabilitu mezi kmeny samotnými. Na druhou stranu autoři Hu et al. (2020) zjistili u korálovce ježatého snížení BE již při přídatku selenu v koncentraci 0,5 mg/kg. Anorganické soli (Na_2SeO_3 a Na_2SeO_4) také přidávali do substrátu autoři Niedzielski et al. (2014). Testovány byly 3 druhy hub včetně *H. erinaceus*. Bylo pozorováno statisticky neprůkazné mírné zvýšení výnosů korálovce při aplikaci anorganických solí selenu do koncentrace 0,2 mM, nicméně při navýšení nad 0,4 mM včetně, byl sledován negativní vliv a toxické působení selenu, kdy ze všech hub byl korálovec nejvíce náchylný. Zięba et al. (2020) pozorovali negativní vliv na BE plodnic u *P. eryngii* při aplikaci 50 mg/l Na_2SeO_3 .

Přestože náš komerční kmen KZ 120 měl nejvyšší výnosy, obsahoval nejméně akumulovaného selenu v plodnicích. V práci Matějky (2022) bylo také zjištěno, že kmen KZ 120 obsahuje i nejméně biologicky aktivních látek, zatímco divoké izoláty KZ 91 a KZ 92 obsahovaly nejvíce biologicky aktivních látek hericerinu A, hericenu A a isohericinu. Druhý náš komerční kmen KZ 111 z Belgie měl pak široké spektrum biologicky aktivních látek a zároveň nejvyšší akumulaci selenu, ale nízký výnos. Naše dosažené výsledky potvrzují, že jsou velké rozdíly mezi druhy hub, ale také mezi jednotlivými kmeny.

Ranost kmenů nebyla vlivem přídatku selenu zásadně ovlivněna. Statisticky významný rozdíl oproti kontrole byl pouze u kmene KZ 91, který byl ve variantě 2 mg/kg opožděn o 2,5

dne v 1. vlně a o 5,5 dne ve 2. vlně. Zatímco u kmene KZ 120 byl pozorován opačný efekt, ve 2. sklizňové vlně byl ve variantě 6 mg/kg sklizen o 3,5 dne dříve oproti kontrole. Velká variabilita byla pozorována mezi kmeny samotnými, kdy nejranější byl kmen KZ 91 a KZ 120 v 1. vlně.

Sledován byl rovněž vliv na stáří plodnice, kdy bylo zjištěno, že se obsah selenu v malé, střední a zralé plodnici zásadně neliší, až do koncentrace přídatku selenu 6 mg/kg, zatímco u nejvyšší hladiny fortifikace byl nejvyšší obsah selenu ve střední vývojové fázi. Teoretickým vysvětlením může být ředící efekt, kdy narůstá biomasa plodnice, ale příjem selenu zůstává stejný.

Zajímavostí je také růžové zbarvení plodnic kmenů KZ 91, 111 a 120, které byly v mladších vývojových fázích narůžovělé, kdy s rostoucí koncentrací Se v substrátu růžová barva zintezňovala. Barva kmene KZ 92 zůstala ve všech pokusech bílá. Podobný jev byl pozorován u korálovce v pokusech Niedzielski et al. (2014), kdy s aplikací seleničitanu bylo dosaženo mírného narůžovění i u plodnic, které tuto vlastnost nemají. Výše zmínění autoři vysvětlují tuto skutečnost možného mechanismu detoxikace anorganických solí Se a jejich redukcí na elementární nanočástice Se s růžovým zbarvením. Nicméně lehké růžové zbarvení bylo pozorováno i u kontrolních variant. Důvodem může být nízká teplota, vysoká intenzita osvětlení a také perioda osvětlení. Pěstírna byla osvětlována 24 hodin s intenzitou okolo 500 lux. V pokusech mimo tuto diplomovou práci bylo zjištěno, že když se intenzita sníží na 200 lux a méně a perioda se nastaví na 12 h, tak plodnice zůstávají bílé. Je to ale záležitost kmene, protože například autoři Ko et al. (2005a) pěstovali korálovce při intenzitě osvětlení 1000 lux a růžové zbarvení nebylo pozorováno. Zda je zbarvení špatné je otázkou, například autoři Turk et al. (2021) zjistili, že při pěstování korálovce s omezeným osvětlením roste obsah biologicky aktivních látek. Nicméně v pokusech diplomové práce nebyl porovnáván obsah těchto látek.

6.3 Sledování vlivu obohacení substrátu různými koncentracemi ZnSO₄ na výnos a obsah Zn v plodnicích

V tomto pokuse byl zkoumán vliv působení různých dávek přídatku zinku v ZnSO₄ do substrátu na výslednou koncentraci zinku v plodnicích a růstové parametry. Byla nalezena velká variabilita v jeho obsahu mezi jednotlivými kmeny. Jediný kmen KZ 120 reagoval úměrně na přidávání zinku do substrátu (navýšení obsahu o 68 µg/g oproti kontrole). Podobně reagoval i kmen KZ 91 (navýšení obsahu o 57 µg/g oproti kontrole). U těchto kmenů byla nalezena i silná závislost KZ 91 ($r=0,89$ a $r^2=0,8$) a KZ 120 ($r=0,93$ a $r^2=0,87$). Nejhůře reagoval kmen KZ 92. Nicméně oproti selenu houby tak dobře nereagovaly. Tuto skutečnost potvrzují i Jablonský et al. (2022) u hlívy ústřičné a lesklokorek (*G. lucidum* a *G. lingzhi*). U *Pleurotus ostreatus* byl rozdíl v obsahu zinku mezi kontrolními vzorky a vzorky sklizenými ze substrátů s nejvyšším přídatkem zinku v průměru jen 15,6 µg/g. U *G. lucidum* docházelo se zvyšující se koncentrací Zn k mírnému nárůstu obsahu zinku (až o 14 µg/g Zn mezi kontrolou a 40 mg/kg), nicméně u *G. lingzhi* obsah zinku se zvyšující se dávkou kolísal, kdy u variant 20 a 40 mg/kg byl víceméně totožný s kontrolou. Obdobně tak autoři Matute et al. (2011) sledovali obsah zinku v plodnicích, kdy se jeho obsah nezvyšoval úměrně s přídatkem do substrátu, kdy s 1. fortifikační hladinou byl dokonce nižší než v kontrolní skupině. Obdobně jako u selenu

byla hodnocena efektivita využití přídatku v 1. vlně. Bylo zjištěno, že nejvíce zinku ze substrátu akumulovaly kmeny při obohacení 10 mg/kg a se zvyšující se koncentrací se snižovala, neboť došlo k ovlivnění výnosů. Poznatky o efektivitě využití zinku v různých koncentracích také nebyly v literatuře nalezeny, ačkoliv se jedná o docela zásadní informaci.

Negativní působení na výnos a pozdnější příchod první sklizně se zvyšovalo s vyšší dávkou Zn. Substráty s přídatkem zinku dosahovaly nižší BE oproti kontrole, kdy s nejvyšší koncentrací (40 mg/kg) byl zaznamenán výrazný pokles. Nejnižší BE za celý pokus měl kmen KZ 111 (17,21 %), což je poloviční hodnota oproti kontrole. Byla nalezena silná a velmi silná závislost mezi přídatkem zinku a výnosem všech kmenů a také s raností u kmenů KZ 92, 111 a 120. Nicméně to je v rozporu s výsledky autorů Zięba et al. (2020), kteří nepozorovali statisticky významné snížení BE při aplikaci síranu zinečnatého (87,2 mg/l) a hydroaspartátu zinečnatého (100 mg/l) u hlívy máčkové. Taktéž autoři Oyetayo et al. (2021) nezaznamenali snížení BE u *P. pulmonarius* při suplementaci substrátu 200 mg/kg Zn ve formě ZnSO₄ a nebyla pozorována žádná změna ve vzhledu plodnic. Obdobně Matute et al. (2011) u *G. lucidum* zjistili, že po přidání 25, 50 a 100 mg/Kg Zn do substrátu se BE snížila jen mírně o 3 %. Zatímco Poursaeid et al. (2015) u *P. florida* pozorovali zvýšení výnosu až do koncentrace zinku v médiu 150 mg/l.

Snížená biologická efektivita byla důsledkem malé sklizně u 1. sklizňové vlny. Druhá vlna již dosahovala vyšších výnosů. Je možné, že během doby prorůstání v pěstírně došlo k sorpci síranu zinečnatého na substrát nebo jej upravila na přijatelnou formu, že se s ním houba dokázala vypořádat. Autoři Oyetayo et al. (2021) konstatují, že na výnos a obsah zinku nemá vliv jen samotný přídatek, ale také samotné složení substrátu.

Zvýšené dávky Zn zásadně prodlužovaly dobu fruktifikace s výjimkou kmene KZ 91. Důvodem horší BE a ranosti může být toxické působení vyšších dávek ZnSO₄. Lze tedy konstatovat, že korálovec není příliš vhodnou houbou na obohacování zinkem.

6.4 Působení různých dávek Se a Zn na produkci mycelia v tekuté živné půdě

Byla nalezena silná negativní závislost mezi obsahem anorganických solí a výnosem mycelia kmenů KZ 111 a KZ 120. To je v rozporu s prací Malinowska et al. (2009), kdy negativní účinky na korálovec měl přídatek selenu až s koncentrací 100 mg/l a při koncentraci 25 mg/l nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. V pokusech této práce došlo k negativnímu účinku již při koncentraci 6 mg/l. Autoři Hu et al. (2020) na korálovci také pozorovali negativní účinky až při koncentracích selenu 400 mg/kg v agarovém médiu. Savić et al. (2009) studovali růst mycelia na agaru a akumulaci selenu v plodnicích hlívy ústříčné ze substrátu při přídatku dvou anorganických forem selenu (Na₂SeO₄ a Na₂SeO₃). Autoři zjistili, že při obohacení 1, 10 a 25 mg/l měli soli stimulující efekt, ale při vyšších koncentracích negativní toxické působení. Obdobně pak Zięba et al. (2020) zjistili, že nedošlo k negativnímu snížení výnosu mycelia ze submerzní kultury po přidání Na₂SeO₃ v koncentraci 50 mg/l u hlívy máčkové. Výše zmíněný kolektiv autorů také pozoroval vliv Zn (20 mg/l) na výnos mycelia, který se po obohacení média síranem zinečnatým statisticky výrazně zvýšil. Také autoři Matute et al. (2011) při pokusech na *G. lucidum* zjistili, že po přidání Zn v koncentracích 25 a 50 mg/kg byl v tekuté kultuře pozorován pozitivní vliv na výnos mycelia. Obdobně pak

autoři Poursaeid et al. (2015) pozorovali zvýšení výnosu mycelia až do koncentrace zinku 150 mg/l u *P. florida*. Naopak Ślusarczyk et al. (2014) pěstovali mycelium korálovce ježatého s přídávkem Na_2SeO_3 (100 mg/l) a pozorovali 90 % úmrtnost buněk mycelia po 24 h, pokud byl ale aplikován organický selen, tak k výraznému úhynu nedocházelo. Tyto skutečnosti rozdílného chování hub mohou být způsobeny vlivem některých faktorů prostředí (např. koncentrace minerálních látek v kultivačním médiu, pH a organické látky) ale i samotných hub (např. druh houby, vlastnosti daného kmene, podmínky růstu mycelia a plodnic a analyzovaná morfologická část) (Poursaeid et al. 2015). Z toho lze usoudit, že korálovec je více citlivý na rozpuštěné anorganické soli v roztoku oproti ostatním houbám. Toxické působení selenu je nejspíše spojeno s tvorbou reaktivních forem kyslíku, peroxidací membránových fosfolipidů, inhibicí dýchání nebo poškozením DNA (Hu et al. 2020).

Výsledky stanovení obsahu Se a Zn v myceliu se neukázalo průkazným, neboť se přišlo na metodickou chybu. Separované pelety mycelia se musí před analýzou proprat v destilované vodě, aby došlo odstranění zbytku použitých solí, které byly sorbovány na povrchu mycelia.

Kultivační roztoky po skončení pokusů byly různě zbarveny. Ukázaly se rozdíly mezi roztoky obohacenými různými solemi. Rozdíly se ukázaly při měření absorbance při vlnové délce 600nm, což poukazuje na produkci různých metabolitů, které by se do budoucna mohly zkoumat. Toto tvrzení je v souladu s prací Malinowska et al. (2009), kdy bylo pozorováno zbarvení do cihlově červené barvy, což naznačuje neutralizaci vysoce toxického seleničitanu sodného prostřednictvím akumulace špatně rozpustné amorfní alotropické červené formy elementárního selenu (Se^0). U zralých plodnic byly také pozorovány rozdíly kdy se jejich vůně v rámci kmenů výrazně liší.

6.5 Vliv různých přídávku do substrátu na obsah Se v plodnicích a BE kmene KZ 120

Bylo prokázáno, že typ přídávku má vliv na výsledný obsah selenu v plodnicích. Nejvyšší obsah dosahovala kontrolní varianta O - pšeničné otruby (69,9 $\mu\text{g/g}$), u které byl zároveň prokázán statisticky významný rozdíl oproti ostatním přídávům, mimo variantu S. Nejvyššího výnosu dosáhla varianta SS - sójové slupky (88,8 %), která zároveň měla druhý nejnižší obsah selenu v plodnicích (43,7 $\mu\text{g/g}$). Důvodem rozdílného obsahu může být rozdílné pH, organické látky a koncentrace ostatních prvků v pěstebních substrátech. Toto potvrzují autoři Rasalanavho et al. (2020) u volně rostoucích hub, kdy vliv lokality hrál významnou roli na sorpci prvků včetně selenu, u kterého mimo jiné byla nalezena korelace mezi obsahem ostatních prvků (As a Pb) a obsahem selenu v plodnicích. Dále pak Panina (2021) při pokusech na hlívě ústřičné, kdy její plodnice dosahovaly vyšší obsah selenu v substrátu s přídávkem pilin. Jedním z možných vysvětlení v pokusu diplomové práce je velmi silná závislost ($r=0,97$) mezi C/N substrátu a obsahem Se, kdy se zvyšujícím se C/N se zvyšoval i obsah selenu.

Tento poměr však neměl vliv na celkovou BE, kde nebyla nalezena průkazná závislost, neboť varianta RP (C/N 36,02) měla nejnižší výnosy a nejvyšší obsah dusíku, zatímco nejvyšší výnosy měla varianta SS s poměrem C/N jen o 4 vyšší, konkrétně 40,39. To je v souladu s prací Atila (2019), který také nenašel závislost s poměrem C/N, ale našel korelaci pouze s obsahem ligninu. Ale v rozporu se studií autorů Fan et al. (2021), kdy bylo pěstování korálovce testováno

na směsi pilin, větviček z moruše a zbytků kořenů ze zpracování rostliny puerarie (*Pueraria lobata*). Výše zmínění autoři zde našli korelaci mezi úzkým poměrem C/N a výnosem.

Na výnos ale nemusí mít jen samotný poměr, ale může to být dáno i vlastnostmi samotného přídatku (zrnatostní frakce, obsah ligninu, antinutričních látek (u řepky), oleje a dalších). Sledováním výnosu mycelia korálovce a dalších hub na různých pokrutinách se zabývali autoři Krupodorova & Barshteyn (2015). Kolektiv těchto autorů pro korálovec shledal řepkové pokrutiny jako jeden z horších substrátů a sójové pokrutiny jako nejlepší. Toto zjištění může být jednou z možných vysvětlení tak rozdílného výnosu plodnic v této práci. Také Siwulski & Sobieralski (2005) potvrzují, že přídatek sójového šrotu a pšeničných otrub dosahoval nejvyšších výnosu při pěstování korálovce. Pozitivní vliv na výnos při použití sójových slupek zaznamenali i autoři Liu et al. (2005) u *P. sajor-caju*, Atoji-Henrique et al. (2017) u lesklokorky lesklé nebo Ryu et al. (2015) u hlívy máčkové. Obohacení pomocí sójových slupek je v Americe velice populární (Shield), i u nás by se do budoucna mohlo jednat o alternativní přídatek místo standardně používaných otrub, neboť plochy sóji stoupají.

Dále byla sledována efektivita využití selenu z přídatku v 1. vlně v rámci variant, kdy nejvyšší efektivitu využití dosáhl substrát s přídatkem sójových slupek, neboť měl největší výnos ze všech variant.

Vliv sklizňové vlny na obsah Se v plodnicích kmene KZ 120 varianty RR - řepné řízky nebyl prokázán. Je patrné, že obsah selenu se v závislosti na sklizňovou vlnu neměnil. U 1. vlny se obsah průměrně pohyboval 48,38 $\mu\text{g/g}$ a u 2. vlny 48,54 $\mu\text{g/g}$. Toto zjištění je v rámci praxe důležité, neboť to potvrzuje možnost využití dalších vln. U varianty O, nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými vývojovými fázemi plodnic, které měly průměrně 68,91-69,89 $\mu\text{g/g}$. U druhé varianty s mlátem se obsah mezi jednotlivými fázemi vývoje lišil. To signalizuje rovnoměrný příjem selenu ve variantě O a dále potvrzuje fakt, že složení substrátu má vliv na výsledný obsah selenu v plodnicích.

Na téma zkoumání vlivu přídatku na výsledný obsah selenu není v současné době tolik vědecké literatury a do budoucna by mohlo být žadáným předmětem studia, neboť z pokusů vyplývá, že přídatky do pěstebního média hrají velkou roli v příjmu selenu houbami.

7 Závěr

V této diplomové práci byl hodnocen vliv přídatku selenu (seleničitanu sodného) a zinku (síranu zinečnatého) do substrátu na růstové parametry a výsledný obsah selenu a zinku v plodnicích korálovce ježatého.

- Byla potvrzena hypotéza o vlivu složení substrátu na obsah selenu a zinku v plodnicích. Nejvyššího obsahu selenu bylo dosaženo u všech pokusných variant s nejvyšším přídatkem selenu a všech variant vyšla silná závislost. Nejvíce selenu na gram sušiny naakumulovaly plodnice kmene KZ 111. U zinku bylo také stanoveno vyšší množství Zn v plodnicích oproti kontrole, ale jen u kmene KZ 120 a KZ 91 byla nalezena silná závislost mezi přidáním zinkem do substrátu a výsledným Zn v plodnicích.
- Bylo potvrzeno, že koncentrace solí zinku a selenu ovlivňují termín nasazení a výnos plodnic. U substrátů s přídatkem selenu bylo zaznamenáno malé zvýšení BE (biologické efektivity), nicméně statisticky průkazné bylo pouze u kmene KZ 120 s přídatkem selenu 2 mg/kg substrátu, který měl i nejvyšší výnosy. Substráty s přídatkem zinku dosahovaly nižší BE oproti kontrole, kdy s nejvyšší koncentrací (40 mg/kg) byl zaznamenán výrazný pokles. Nejnižší výnos měl kmen KZ 111.
- Zvýšené dávky selenu neměly výrazný vliv na nasazení plodnic korálovce, naopak zvýšené dávky zinku zásadně prodlužovaly dobu fruktifikace s výjimkou kmene KZ 91.
- Obsah Se v plodnicích sklizených v různých obdobích se neměnil. Bylo zjištěno, že počet sklizňové vlny nemá výrazný vliv na obsah selenu v plodnicích u varianty RR s přídatkem 6 mg/kg selenu, což je pro praxi důležité. S pokračujícími sklizňovými vlnami se neměnil obsah selenu v plodnicích.
- Efektivita využití selenu a zinku při různých koncentracích byla vyhodnocena jako důležitý parametr při obohacování hub těmito prvky. Nejvíce selenu ze substrátu naakumulovaly houby při koncentracích přídatku 6 mg/kg a zinku při přídatku 40 mg/kg.
- U kmene KZ 91 nebyl zjištěn výrazný vliv vývojové fáze plodnice na obsah selenu, kromě varianty 18 mg/kg, kde obsah ve střední vývojové fázi měl nejvíce selenu. To platilo i pro kmen KZ 120 s přídatkem selenu 6 mg/kg varianty O. Rozdíl byl sledován u varianty S, kde byl obsah rozdílný.
- Byl také zkoumán vliv přídatku na výnos a celkový obsah selenu při fortifikaci 6 mg/kg, kdy nejvyšší BE a využití selenu z přídatku dosáhl přídatek sójových slupek. Nejvíce selenu v sušině dosáhla varianta s přídatkem otrub.
- Z výsledků práce vyplývá i toxické působení solí Zn a Se v živném médiu u submerzní kultivace, kdy s rostoucí koncentrací klesal výnos mycelia.
- Data získaná v diplomové práci bude možné aplikovat při vývoji složení substrátů, optimální koncentrace solí a k výběru nejlepšího kmene. Byly vypočítány rovnice pro stanovení výsledného obsahu selenu a zinku v závislosti na množství přidávané anorganické soli Se nebo Zn a zjištěna jejich schopnost využívat přidávané prvky.

8 Literatura

- Aguiar T, Luiz C, Rocha Neto AC, Di Piero RM. 2018. Residual polysaccharides from fungi reduce the bacterial spot in tomato plants. *Bragantia* **77**:299-313.
- Atila F, Tuzel Y, Fernández JA, Cano AF, Sen F. 2018. The effect of some agro-industrial wastes on yield, nutritional characteristics and antioxidant activities of *Hericium erinaceus* isolates. *Scientia Horticulturae* **238**:246-254.
- Atila F, Tüzel Y, Pekşen A, Cano AF, Fernández JA. 2021. The effect of different fruiting temperatures on the yield and nutritional parameters of some wild and hybrid *Hericium* isolates. *Scientia Horticulturae* 280 (e109915) DOI: 10.1016/j.scienta.2021.109915.
- Atila F. 2019. Lignocellulosic and proximate based compositional changes in substrates during cultivation of *Hericium erinaceus* mushroom. *Scientia Horticulturae* 258 (e108779) DOI: 10.1016/j.scienta.2019.108779.
- Atoji-Henrique K, Henrique DS, Glória LS, Mazaro SM, Casagrande M. 2017. Influence of substrate composition on beta-glucans production and growth of *Ganoderma lucidum*. *J Agric Sci* **9**:190-199.
- Avtonomova AV, Bakanov AV, Shuktueva MI, Vinokurov VA, Popova OV, Usov AI, Krasnopol'skaia LM. 2012. Submerged cultivation and chemical composition of *Hericium erinaceus* mycelium. *Antibiotiki i Khimioterapiia= Antibiotics and Chemoterapy* **57**:7-11.
- Badalyan SM. 2003. Edible and medicinal higher Basidiomycetes mushrooms as a source of natural antioxidants. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **5**:153-163.
- Berr C, Balansard B, Arnaud J, Roussel AM, Alperovitch A, EVA Study Group. 2000. Cognitive decline is associated with systemic oxidative stress: the EVA study. *Journal of the American Geriatrics Society* **48**:1285-1291.
- Bleys J, Navas-Acien A, Guallar E. 2008. Serum selenium levels and all-cause, cancer, and cardiovascular mortality among US adults. *Archives of internal medicine* **168**:404-410.
- Cohen N, Cohen J, Asatiani MD, Varshney VK, Yu HT, Yang YC, Li YH, Mau JL, Wasser SP. 2014. Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured mycelia of culinary-medicinal higher Basidiomycetes mushrooms. *International journal of medicinal mushrooms* **16**:273-291.
- Colak A, Faiz Ö, Sesli E. 2009. Nutritional composition of some wild edible mushrooms. *Turk J Biochem.* **34**:25-31.
- Cremades O, Diaz-Herrero MM, Carbonero-Aguilar P, Gutierrez-Gil JF, Fontiveros E, Rodríguez-Morgado B, Parrado J, Bautista J. 2012. Preparation and characterisation of selenium-enriched mushroom aqueous enzymatic extracts (MAEE) obtained from the white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food chemistry* **133**:1538-1543.
- Curà A, Gasbarrone R, Cardillo A, Trompetto C, Fattapposta F, Pierelli F, Missori P, Bonifazi G, Serranti S. 2019. Near-infrared spectroscopy as a tool for in vivo analysis of human muscles. *Scientific Reports* **9**:1-14.

- Dai X, Zhan Y, Zhang J, Zhang P, Han Z, Ma Q, Kong X, Liu J, Ma Y. 2015. Regulatory effect of salicylic acid and methyl jasmonate supplementation on ergosterol production in *Hericium erinaceus* mycelia. *Journal of Forestry Research* **26**:71-77.
- Das M & Das R. 2012. Need of education and awareness towards zinc supplementation: a review. *International journal of Nutrition and Metabolism*, **4**:45-50.
- de Oliveira AP & Naozuka J. 2019. Preliminary results on the feasibility of producing selenium-enriched pink (*Pleurotus djamor*) and white (*Pleurotus ostreatus*) oyster mushrooms: Bioaccumulation, bioaccessibility, and Se-proteins distribution. *Microchemical Journal* **145**:1143-1150.
- Duffield-Lillico AJ, Dalkin BL, Reid ME, Turnbull BW, Slate EH, Jacobs ET, Marshall JR, Clark LC. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. 2003. Selenium supplementation, baseline plasma selenium status and incidence of prostate cancer: an analysis of the complete treatment period of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *BJU international* **91**:608-612.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). 2014. Scientific opinion on dietary reference values for selenium. *EFSA Journal* **12**:3846.
- Fan XZ, Yao F, Yin CM, Shi DF, Gao H. 2021. Mulberry twig and pueraria root residue improve the biological efficiency and potential functional value of *Hericium erinaceus*. *Scientia Horticulturae* 286 (e110214) DOI: 10.1016/j.scienta.2021.110214.
- Fazaeli H, Shafyee-Varzeneh H, Farahpoor A, Moayyer A. 2014. Recycling of mushroom compost wheat straw in the diet of feedlot calves with two physical forms. *Int J Recycl Org Waste Agric* **3**:65-73.
- Figlas D, Matute RG, Curvetto NR. 2007. Cultivation of culinary-medicinal lion's mane mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (*Aphyllophoromycetidae*) on substrate containing sunflower seed hulls. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **9**:67-73.
- Finley JW. 2006. Bioavailability of selenium from foods. *Nutrition Reviews* **64**:146-151.
- Friedman M. 2015. Chemistry, nutrition, and health-promoting properties of *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom fruiting bodies and mycelia and their bioactive compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**:7108-7123.
- Gać P, Czerwińska K, Macek P, Jaremków A, Mazur G, Pawlas K, Poręba R. 2021. The importance of selenium and zinc deficiency in cardiovascular disorders. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 82 (e103553) DOI: 10.1016/j.etap.2020.103553.
- Gao S, et al. 2007. Selenium level and cognitive function in rural elderly Chinese. *American journal of epidemiology* **165**:955-965.
- Gąsecka M, Mleczek M, Siwulski M, Niedzielski P, Kozak L. 2015. The effect of selenium on phenolics and flavonoids in selected edible white rot fungi. *LWT-Food Science and Technology* **63**:726-731.

- Gonkhom D, Luangharn T, Raghoonundon B, Hyde K, Stadler M, Thongklang N. 2021. *Hericium*: A review of the cultivation, health-enhancing applications, economic importance, industrial, and pharmaceutical applications. *Fungal Biotech.* **1**:115-127.
- Gregory A, Kretschmer N, Wagner S, Boechzelt H, Klinar D, Bauer R, Pohleven F. 2012. Influence of olive oil press cakes on shiitake culinary-medicinal mushroom, *Lentinus edodes* fruiting bodies production and effect of their crude polysaccharides on CCRF-CEM cell proliferation. *Int J Med Mushrooms* **14**:419-424.
- Gryganski A, Kirchhoff B, Wostemeyr J. 1998. The edible fungus *Hericium erinaceum*. Influence of physical factors on growth and fruiting body yield. *Champignon* **402**:77-82.
- Hanafi FHM, Rezanía S, Taib SM, Din MFM, Yamauchi M, Sakamoto M, Hara H, Park J, Ebrahimi SS. 2018. Environmentally sustainable applications of agro-based spent mushroom substrate (SMS): an overview. *J Mater Cycles Waste Manag* **20**:1383-1396.
- Hassan FRH. 2007. Cultivation of the monkey head mushroom (*Hericium erinaceus*) in Egypt. *Journal of Applied Sciences Research* **3**:1229-1233.
- Hedera P. 2019. Clinical management of Wilson disease. *Ann Transl Med* **7**:S2.
- Heleno SA, Barros L, Martins A, Queiroz MJR, Morales P, Fernandez-Ruiz V, Ferreira ICFR. 2015. Chemical composition, antioxidant activity and bioaccessibility studies in phenolic extracts of two *Hericium* wild edible species. *LWT-Food Science and Technology* **63**:475-481.
- Hu SH, Wang JC, Wu CY, Hsieh SL, Chen KS, Chang SJ. 2008. Bioconversion of agro wastes for the cultivation of the culinary-medicinal lion's mane mushrooms *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. and *H. laciniatum* (Leers) Banker (*Aphyllphoromycetidae*) in Taiwan. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **10**:385-398.
- Hu T, Hui G, Li H, Guo Y. 2020. Selenium biofortification in *Hericium erinaceus* (Lion's Mane mushroom) and its in vitro bioaccessibility. *Food Chemistry* 331 (e127287) DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127287.
- Hu Z, Yao Y, LV M, Zhang Y, Zhang L, Yuan Y, Yue T. 2021. Isolation and identification of three water-soluble selenoproteins in Se-enriched *Agaricus blazei* Murrill. *Food Chemistry* 344 (e128691) DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128691.
- Huang D, Cui F, Li Y, Zhang Z, Zhao J, Han X, Xiao X, Qian J, Wu Q, Guan G. 2007. Nutritional requirements for the mycelial biomass and exopolymer production by *Hericium erinaceus* CZ-2. *Food Technology and Biotechnology* **45**:389-395.
- Chaiyasut C & Sivamaruthi BS. 2017. Anti-hyperglycemic property of *Hericium erinaceus*—A mini review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **7**:1036-1040.
- Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. 2012. Zinc and human health: an update. *Archives of toxicology* **86**:521-534.
- Chasapis CT, Ntoupa PSA, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. 2020. Recent aspects of the effects of zinc on human health. *Archives of toxicology* **94**:1443-1460.

- Imtiaj A, Jayasinghe C, Lee GW, Shim MJ, Rho HS, Lee HS, Hur H, Lee MW, Lee UY, Lee TS. 2008. Vegetative growth of four strains of *Hericium erinaceus* collected from different habitats. *Mycobiology* **36**:88-92.
- Institute of Medicine (USA), Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. 2000. The National Academies Press, Washington.
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. 2001. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press, Washington.
- Jablonský I & Šašek V. 2006. Jedlé a léčivé houby: pěstování a využití. Nakladatelství brázda, Praha
- Jablonský I, Klouček P, Praus L, Koudela M, Jozífek M, Sváta M. 2022. Fortifikace substrátů vybraných léčivých druhů hub selenem a zinkem, certifikovaná metodika. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Jablonský I, Koudela M, Šašek V. 2019. Jedlé a léčivé houby a jak je pěstovat, 1. vydání. Profi Press, Praha.
- Jung JH, Lee KE, Lee SY. 2006. Optimization of submerged cultivation of *Hericium erinaceum*. *KSBB Journal* **21**:96-102.
- Kalač P. 2012. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *J. Sci. Food Agric.* **93**:209-218.
- Kalaras MD, Richie JP, Calcagnotto A, Beelman RB. 2017. Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chemistry* **233**:429-433.
- Kaur G, Kalia A, Sodhi HS. 2018. Selenium biofortification of *Pleurotus* species and its effect on yield, phytochemical profiles, and protein chemistry of fruiting bodies. *Journal of Food Biochemistry* **42** (e12467) DOI: 10.1111/jfbc.12467.
- Kesse-Guyot E, Fezeu L, Jeandel C, Ferry M, Andreeva V, Amieva H, Hercberg S, Galan P. 2011. French adults' cognitive performance after daily supplementation with antioxidant vitamins and minerals at nutritional doses: a post hoc analysis of the Supplementation in Vitamins and Mineral Antioxidants (SU. VI. MAX) trial 1, 2, 3. *The American journal of clinical nutrition* **94**:892-899.
- Kieliszek M. 2019. Selenium—fascinating microelement, properties and sources in food. *Molecules* (e1298) DOI: 10.3390/molecules24071298.
- Kipp AP, Strohm D, Brigelius-Flohé R, Schomburg L, Bechthold AE, Leschik-Bonnet E, Hesecker H, German Nutrition Society (DGE). 2015. Revised reference values for selenium intake. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **32**:195-199.
- Ko HG, Park HG, Park SH, Choi CW, Kim SH, WM Park. 2005a. Comparative study of mycelial growth and basidiomata formation in seven different species of the edible mushroom genus *Hericium*. *Bioresource Technology* **96**:1439-1444.

- Ko HG, Park SH, Kim SH, Park HG, Park WM. 2005b. Detection and recovery of hydrolytic enzymes from spent compost of four mushroom species. *Folia Microbiol (Praha)* **50**:103-106.
- Kora AJ. 2020. Nutritional and antioxidant significance of selenium-enriched mushrooms. *Bull Natl Res Cent* **44**:1-9.
- Koski-Kotiranta S & Niemelä T. 1987. Hydneous fungi of the *Hericiaceae*, *Auriscalpiaceae* and *Climacodontaceae* in northwestern Europe. *Karstenia* **27**:43-70.
- Krupodorova TA & Barshteyn VY. 2015. Alternative substrates for higher mushrooms mycelia cultivation. *Journal of BioScience & Biotechnology* **4**:339-347.
- Kuenzel K, Friedrich O, Gilbert DF. 2016. A recombinant human pluripotent stem cell line stably expressing halide-sensitive YFP-I152L for GABAAR and GlyR-targeted high-throughput drug screening and toxicity testing. *Front Mol Neurosci* **9**:51.
- Kwak AM, Kang DS, Lee SY, Kang HW. 2015b. Effect of spent mushroom substrates on *Phytophthora* Blight disease and growth promotion of pepper. *Journal of Mushroom* **13**:16-20.
- Kwak AM, Min KJ, Lee SY, Kang HW. 2015a. Water extract from spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus* suppresses bacterial wilt disease of tomato. *Mycobiology* **43**:311-318.
- Lee SY, Kang HW, Kim JJ, Han JH. 2015. Effect of spent mushroom substrates of *Hericium erinaceum* on plant pathogens of tomato. *The Korean Journal of Mycology* **43**:185-190.
- Li T, Lo YM, Moon B. 2014. Feasibility of using *Hericium erinaceus* as the substrate for vinegar fermentation. *LWT—Food Sci. Technol.* **55**:323-328.
- Li X, Du X, Ni J. 2019. Zn²⁺ Aggravates tau aggregation and neurotoxicity. *IJMS* **20**:487.
- Li Y, Zhang G, Ng TB, Wang H. 2010. A novel lectin with antiproliferative and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from dried fruiting bodies of the monkey head mushroom *Hericium erinaceum*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* **2010**:1-9.
- Lisiecka J, Prasad R, Jasinska A. 2021. The Utilisation of *Pholiota nameko*, *Hypsizygus marmoreus*, and *Hericium erinaceus* Spent Mushroom Substrates in *Pleurotus ostreatus* Cultivation. *Horticulturae* **7**:396.
- Liu J, Vijayakumar C, Hall CA, Hadley M, Wolf-Hall CE. 2005. Sensory and chemical analyses of oyster mushrooms (*Pleurotus sajor-caju*) harvested from different substrates. *Journal of food science* **70**:586-592.
- Liu Y, Sun J, Luo Z, Rao S, Su Y, Xu R, Yan Y. 2012. Chemical composition of five wild edible mushrooms collected from Southwest China and their antihyperglycemic and antioxidant activity. *Food Chem Toxicol* **50**:1238-44.
- Lou Z, Sun Y, Zhou X, Baig SA, Hu B, Xu X. 2017. Composition variability of spent mushroom substrates during continuous cultivation, composting process and their effects on mineral nitrogen transformation in soil. *Geoderma* **307**:30-37.

- Maher MJ, Magette WL, Smyth S, Duggan J, Dodd VA, Hennerty MJ, McCabe T. 2000. Managing spent mushroom compost (Horticulture and farm forestry series. Teagasc, Dublin.
- Malinowska E, Krzyczkowski W, Herold F, Łapienis G, Ślusarczyk J, Suchocki P, Kuras M, Turło J. 2009. Biosynthesis of selenium-containing polysaccharides with antioxidant activity in liquid culture of *Hericium erinaceum*. *Enzyme and Microbial Technology* **44**:334-343.
- Martínez-Mármol R, et al. Hericerin derivatives activates a pan-neurotrophic pathway in central hippocampal neurons converging to ERK1/2 signaling enhancing spatial memory. *Journal of neurochemistry* 2023 (e15767) DOI: 10.1111/jnc.15767.
- Matějka J. 2022. Rozdíly v metabolomu vybraných kmenů hub rodu *Hericium* [MSc. Thesis]. Czech University of Life Sciences Prague, Prague.
- Matute RG, Serra A, Figlas D, Curvetto N. 2011. Copper and zinc bioaccumulation and bioavailability of *Ganoderma lucidum*. *Journal of Medicinal Food* **14**:1273-1279.
- Meng X, Liu B, Xi C, Luo X, Yuan X, Wang X, Zhu W, Wang H, Cui Z. 2018. Effect of pig manure on the chemical composition and microbial diversity during co-composting with spent mushroom substrate and rice husks. *Bioresour Technol* **251**:22-30.
- Milovanovic I, Lajin B, Braeuer S, Steiner O, Lisa F, Goessler W. 2019. Simultaneous selenium and sulfur speciation analysis in cultivated *Pleurotus pulmonarius* mushroom. *Food chemistry* **279**:231-236.
- Mizuno T, Wasa T, Ito H, Suzuki C, Ukai N (1992) Antitumor-active polysaccharides isolated from the fruiting body of *Hericium erinaceum*, an edible and medicinal mushroom called Yamabushitake or Houtou. *Biosci Biotechnol Biochem* **56**:347-348
- Muszyńska B, Zając M, Kała K, Rojowski J, Opoka W. 2016. Thermal processing can affect zinc availability in some edible mushrooms. *LWT - Food Science and Technology* **69**:424-429.
- Oofosu FK, Yu X, Wang Q, Li H. 2016. Nutrient optimization using response surface methodology for simultaneous biomass and bioactive compound production by Lion's Mane medicinal mushroom, *Hericium erinaceus* (*Agaricomycetes*). *International Journal of Medicinal Mushrooms* **18**:215-226.
- Oyetayo VO, Ogidi CO, Bayode SO, Enikanselu FF. 2021. Evaluation of biological efficiency, nutrient contents and antioxidant activity of *Pleurotus pulmonarius* enriched with Zinc and Iron. *Indian Phytopathology* **74**:901-910.
- Pae M, Meydani SN, Wu D. 2012 The role of nutrition in enhancing immunity in aging. *Aging Dis* **3**:91-129
- Panina A. 2021. Příjem selenu a zinku hlívou ústříčnou (*Pleurotus ostreatus*) kultivovanou na různých substrátech s cílem využití plodnic hub jako doplňků stravy [MSc. Thesis]. Czech University of Life Sciences Prague, Prague.

- Parada RY, Murakami S, Shimomura N, Otani H. 2012. Suppression of Fungal and Bacterial Diseases of Cucumber Plants by Using the Spent Mushroom Substrate of *Lyophyllum decastes* and *Pleurotus eryngii*. *Journal of Phytopathology* **160**:7-8.
- Patočka J. 2014. Bioactive Compounds of Lion's Mane Mushroom (*Hericium erinaceus*). *Psychiatrie* **18**:171-176.
- Phan CW & Sabaratnam V. 2012. Potential uses of spent mushroom substrate and its associated lignocellulosic enzymes. *Appl Microbiol Biotechnol* **96**:863-873.
- Poursaeid N, Azadbakht A, Balali GR. 2015. Improvement of zinc bioaccumulation and biomass yield in the mycelia and fruiting bodies of *Pleurotus florida* cultured on liquid media. *Applied biochemistry and biotechnology* **175**:3387-3396.
- Prange A, Sari M, von Ameln S, Hajdu C, Hambitzer R, Ellinger S, Hormes J. 2019. Characterization of selenium speciation in selenium-enriched button mushrooms (*Agaricus bisporus*) and selenized yeasts (dietary supplement) using X-ray absorption near-edge structure (XANES) spectroscopy. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **51**:164-168.
- Prasad AS. 2009. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **12**:646-652.
- Rasalanavho M, Moodley R, Jonnalagadda SB. 2020. Elemental bioaccumulation and nutritional value of five species of wild growing mushrooms from South Africa. *Food chemistry* 319 (e126596) DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126596.
- Rasmussen LB, Schomburg L, Köhrle J, Pedersen IB, Hollenbach B, Hög A, Ovesen L, Perrild H, Laurberg P. 2011. Selenium status, thyroid volume, and multiple nodule formation in an area with mild iodine deficiency. *European Journal of Endocrinology* **164**:585-590.
- Rayman MP. 2020. Selenium intake, status, and health: A complex relationship. *Hormones* **19**:9-14.
- Rodrigues DMF, Freitas AC, Rocha-Santos TAP, Vasconcelos MW, Roriz M, Rodríguez-Alcalá LM, Gomes AMP, Duarte AC. 2015. Chemical composition and nutritive value of *Pleurotus citrinopileatus* var *cornucopiae*, *P. eryngii*, *P. salmoneostramineus*, *Pholiota nameko* and *Hericium erinaceus*. *J Food Sci Technol* **52**:6927-6939.
- Rodriguez Estrada AE, Lee HJ, Beelman RB, Jimenez-Gasco MDM, Royse DJ. 2009. Enhancement of the antioxidants ergothioneine and selenium in *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* basidiomata through cultural practices. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **25**:1597-1607.
- Ryu JS, Kim MK, Im CH, Shin PG. 2015. Development of cultivation media for extending the shelf-life and improving yield of king oyster mushrooms (*Pleurotus eryngii*). *Scientia Horticulturae* **193**:121-126.
- Savic M, Dubljanin B, Kostic M, Vasiljevic I, Niksic M. 2011. Accumulation of selenium from selenized yeast in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. In Proceedings of the 7th international conference on mushroom biology and mushroom products (ICMBMP7),

- Arcachon, France, Section Posters. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Villenave d'Ornon **2011**:135-139.
- Savić MD, Petrović J, Klaus A, Nikšić M, Rajković M, Filipović N, Antić-Mladenović S. 2009. Growth and fruit body formation of *Pleurotus ostreatus* on media supplemented with inorganic selenium. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke **116**:209-215.
- Shahar A, Patel KV, Semba RD, Bandinelli S, Shahar DR, Ferrucci L, Guralnik JM. 2010. Plasma selenium is positively related to performance in neurological tasks assessing coordination and motor speed. Movement Disorders **25**:1909-1915.
- Schilsky ML. 2017. Wilson disease: diagnosis, treatment, and follow-up. Clin Liver Dis **21**:755-767.
- Siwulski M & Sobieralski K. 2005. Influence of some growing substrate additives on the *Hericium erinaceum* (Bull., Fr.) pers. yield. Sodinikyste Darzininkyste **24**:2250-253.
- Ślusarczyk J, Kuraś M, Malinowska E, Skalicka-Woźniak K, Głowniak K. 2014. Ultrastructural changes in the mycelium of *Hericium erinaceum* (Bull.; Fr.) Pers. under selenium-induced oxidative stress. Journal of the Science of Food and Agriculture **94**:2718-2725.
- Sokół S, Golak-Siwulska I, Sobieralski K, Siwulski M, Górka K. 2015. Biology, cultivation, and medicinal functions of the mushroom *Hericium erinaceum*. Acta Mycologica **50**:1069.
- Solovyev N, Prakash NT, Bhatia P, Prakash R, Drobyshev E, Michalke B. 2018. Selenium-rich mushrooms cultivation on a wheat straw substrate from seleniferous area in Punjab, India. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology **50**:362-366.
- Spolar MR, Schaffer EM, Beelman RB, Milner JA. 1999. Selenium-enriched *Agaricus bisporus* mushrooms suppress 7,12-dimethylbenz[a]anthracene bioactivation in mammary tissue. Cancer Lett **138**:145-150.
- Stamets P. 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms, 3. vydání. Ten Speed Press, Berkeley.
- Stefánka Z, Ipolyi I, Dernovics M, Fodor P. 2001. Comparison of sample preparation methods based on proteolytic enzymatic processes for Se-speciation of edible mushroom (*Agaricus bisporus*) samples. Talanta **55**:437-447.
- Szewczyk B. 2013. Zinc homeostasis and neurodegenerative disorders. Frontiers in aging neuroscience **5**:33.
- Thongbai B, Rapior S, Hyde KD, Wittstein K, Stadler M. 2015. *Hericium erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. Mycol Progress **14**:91.
- Turk A, Yeon SW, Ryu SH, Ko SM, Kim BS, Hwang BY, Lee MK. 2021. Effect of culture conditions on the content of hericene A, an α -glucosidase inhibitory constituent of *Hericium erinaceus*. Scientia Horticulturae **288** (e110407) DOI: 10.1016/j.scienta.2021.110407.

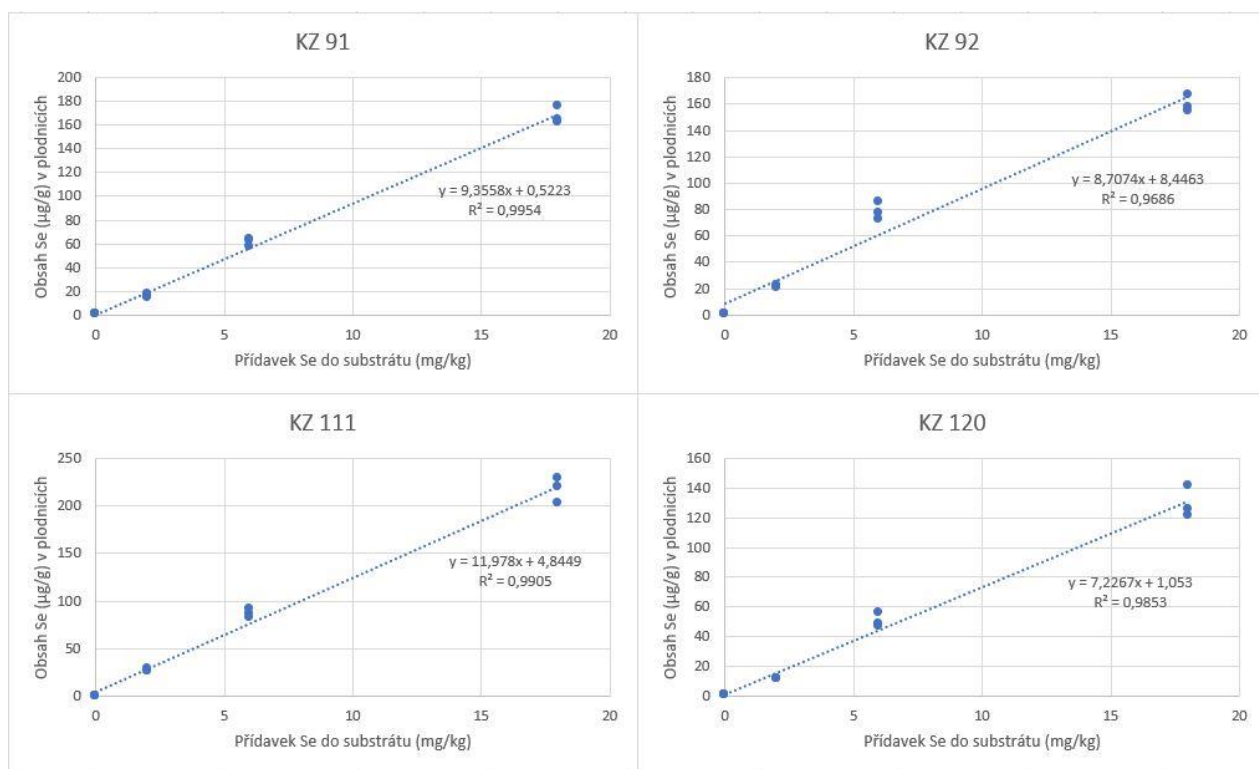
- Ulziijargal E, Yang JH, Lin LY, Chen CP, Mau JL. 2013. Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. *Food Chem.* **138**:70-76.
- Venturella G, Ferraro V, Cirilincione F, Gargano ML. 2021. Medicinal mushrooms: Bioactive compounds, use, and clinical trials. *International Journal of Molecular Sciences* **22**:1-31.
- Vigna L, et al. 2019. *Hericiium erinaceus* improves mood and sleep disorders in patients affected by overweight or obesity: could circulating pro-BDNF and BDNF be potential biomarkers?. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2019 (e7861297) DOI: 10.1155/2019/7861297.
- Vinceti M, Filippini T, Del Giovane C, Dennert G, Zwahlen M, Brinkman M, Zeegers MPA, Horneber M, D'Amico R, Crespi CM. 2018. Selenium for preventing cancer. *Cochrane database of systematic reviews* **1**.
- Wang K, Bao L, Qi Q, Zhao F, Ma K, Pei Y, Liu H. 2015. Erinacerins C–L, isoindolin-1-ones with α -glucosidase inhibitory activity from cultures of the medicinal mushroom *Hericiium erinaceus*. *Journal of Natural Products* **78**:146-154.
- Wang XY, Zhang DD, Yin JY, Nie SP, Xie MY. 2019. Recent developments in *Hericiium erinaceus* polysaccharides: extraction, purification, structural characteristics and biological activities. *Critical reviews in food science and nutrition* **59**:96-115.
- Winder M, Bulska-Będkowska W, Chudek J. 2021. The use of *Hericiium erinaceus* and *Trametes versicolor* extracts in supportive treatment in oncology. *Acta Pharmaceutica* **71**:1-16.
- Woraharn S, Lailerd N, Sivamaruthi BS, Wangcharoen W, Sirisattha S, Peerajan S, Chaiyasut C. 2016. Evaluation of factors that influence the L-glutamic and γ -aminobutyric acid production during *Hericiium erinaceus* fermentation by lactic acid bacteria. *CyTA-Journal of Food* **14**:47-54.
- Wu J, Uchida K, Ridwan AY, Kondo M, Choi JH, Hirai H, Kawagishi H. 2019. Erinachromanes A and B and Erinaphenol A from the Culture Broth of *Hericiium erinaceus*. *Journal of agricultural and food chemistry* **67**:3134-3139.
- Xu M, Zhu S, Li Y, Xu S, Shi G, Ding Z. 2021. Effect of selenium on mushroom growth and metabolism: a review. *Trends in Food Science & Technology* **118**:328-340.
- Yang Y, Li J, Hong Q, Zhang X, Liu Z, Zhang T. 2022. Polysaccharides from *Hericiium erinaceus* Fruiting Bodies: Structural Characterization, Immunomodulatory Activity and Mechanism. *Nutrients* 14 (e3721) DOI: 10.3390/nu14183721.
- Yu WS, Fung ML, Lee CW, Lim LW, Wong KH. 2022. The monkey head mushroom and memory enhancement in Alzheimer's disease. *Cells* 11 (e2284) DOI: 10.3390/cells11152284.
- Zhanxi L & L Zhanhua. 1999. The textbook for international training class, Jun-cao Technology Institute, Fujian Agricultural University, China.

- Zhao L, Zhao G, Zhao Z, Chen P, Tong J, Hu X. 2004. Selenium distribution in a Se-enriched mushroom species of the genus *Ganoderma*. Journal of agricultural and food chemistry **52**:3954-3959.
- Zheng L, et al. 2020. Distribution of Zinc in Mycelial Cells and Antioxidant and AntiInflammatory Activities of Mycelia Zinc Polysaccharides from *Thelephora ganbajun* TG01. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2020 (e2308017) DOI: 10.1155/2020/2308017.
- Zhou N, Long H, Wang C, Yu L, Zhao M, Liu X. 2020. Research progress on the biological activities of selenium polysaccharides. Food & function **11**:4834-4852.
- Zięba P, Kała K, Włodarczyk A, Szewczyk A, Kunicki E, Sękara A, Muszyńska B. 2020. Selenium and zinc biofortification of *Pleurotus eryngii* mycelium and fruiting bodies as a tool for controlling their biological activity. Molecules 25 (e889) DOI: 10.3390/molecules25040889.
- Zied DC, Sánchez JE, Noble R, Pardo-Giménez A. 2020. Use of Spent Mushroom Substrate in New Mushroom Crops to Promote the Transition towards A Circular Economy. Agronomy 10 (e1239) DOI: 10.3390/agronomy10091239.

8.1 Internetové zdroje

- Google Trends. 2023. Google Trends korálovec ježatý houba. Google LLC. Available from <https://trends.google.com/> (accessed March 2023).
- Index Fungorum. 2023. *Herichium erinaceus*. Index Fungorum. Available from <http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=356812> (accessed January 2023).
- National Institutes of Health. 2021. Selenium, Fact Sheet for Health Professionals. National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements. Available from <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Selenium-HealthProfessional/#en53> (accessed January 2023).
- Shields T. A guide to growing lion's mane mushroom. Freshcap Mushrooms. Available from <https://learn.freshcap.com/growing/candidates-for-cultivation-the-lions-mane-mushroom/> (accessed January 2023).

9 Samostatné přílohy



Grafy I: Závislost mezi přidavkem Se a obsahem Se v plodnicích

Proměnná	Korelace, Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	Se ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích KZ 91	Se ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích KZ 92	Se ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích KZ 111	Se ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích KZ 120
Množství Se v substrátu (mg/kg)	0,997688	0,984165	0,995245	0,992615

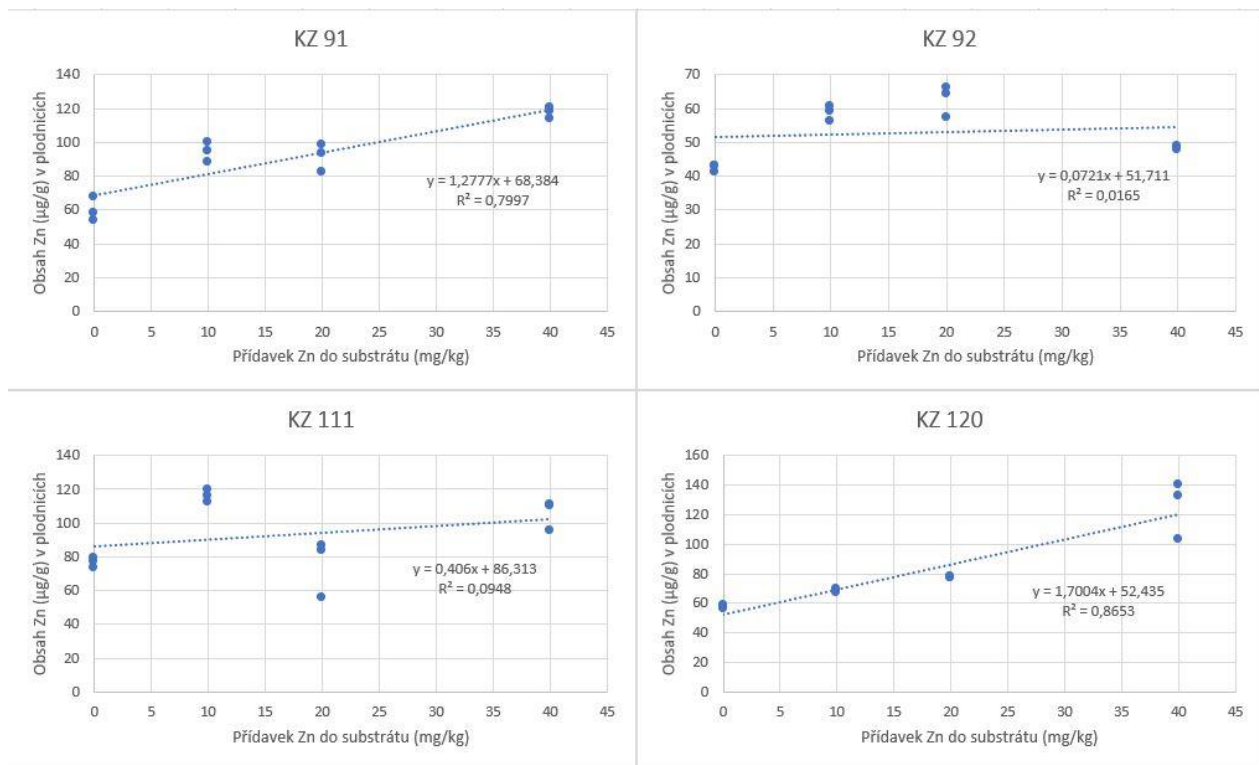
Tabulka I: Závislost množství přidavku Se do substrátu na obsah Se v plodnici

Proměnná	Korelace Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	BE KZ 91	BE KZ 92	BE KZ 111	BE KZ 120
Množství Se v substrátu (mg/kg)	-0,126340226	-0,039027	0,078222	-0,046337

Tabulka II: Závislost množství přidavku Se do substrátu na BE

Proměnná	Korelace Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	Ranost KZ 91	Ranost KZ 92	Ranost KZ 111	Ranost KZ 120
Množství Se v substrátu (mg/kg)	-0,243599	-0,028396	-0,189466	0,299339

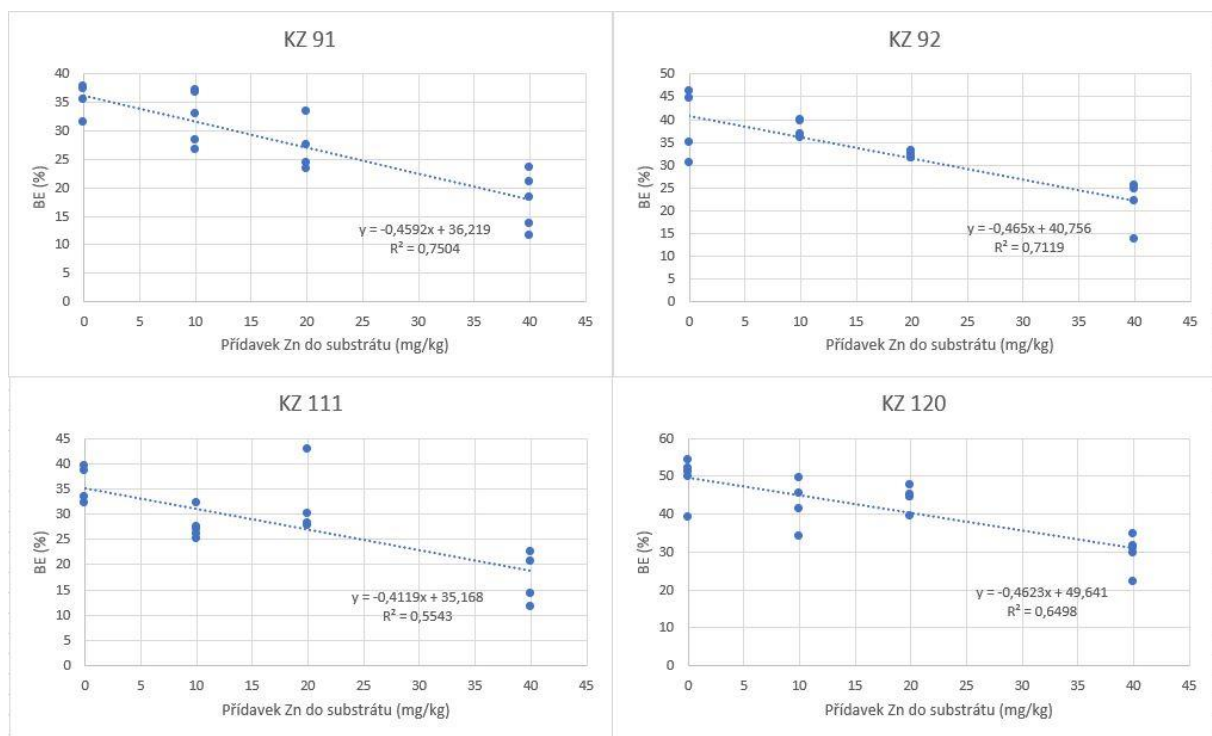
Tabulka III: Závislost množství přidavku Se do substrátu na ranost 1. vlny



Grafy II: Závislost mezi přídatkem Zn a obsahem Zn v plodnicích

Proměnná	Korelace Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	Zn ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích KZ 91	Zn ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích KZ 92	Zn ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích KZ 111	Zn ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích KZ 120
Množství Zn v substrátu (mg/kg)	0,894252	0,128454	0,307840	0,930198

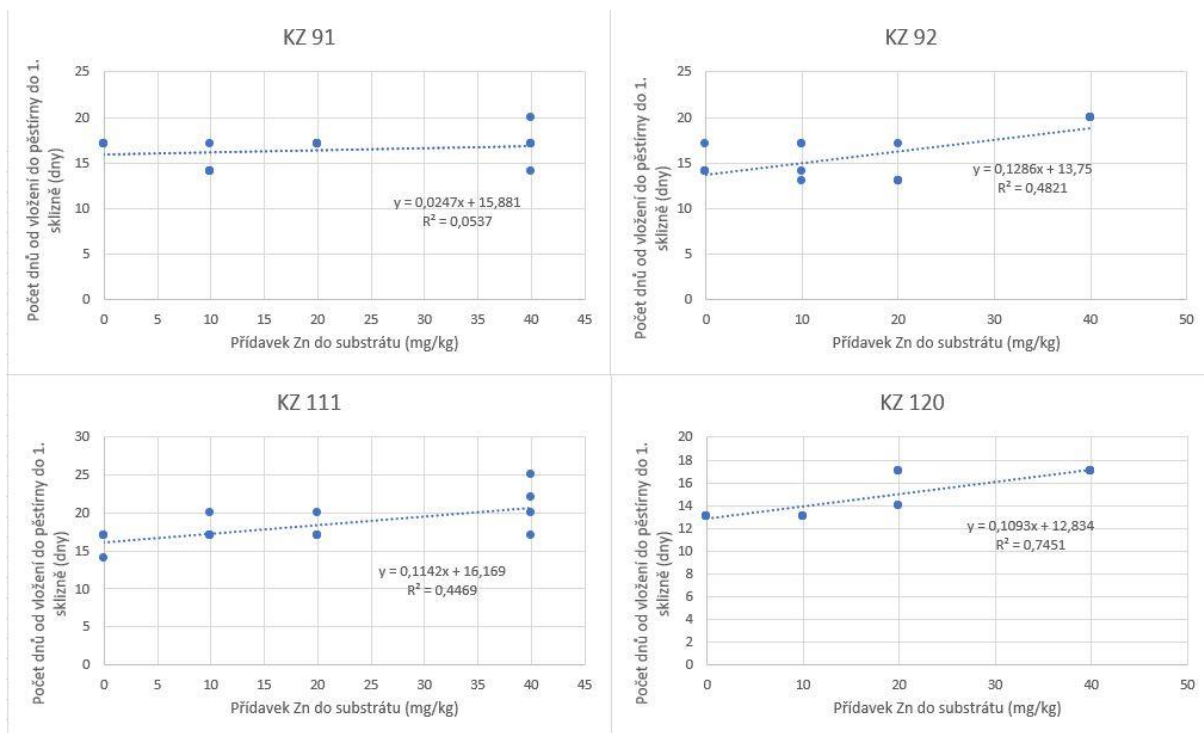
Tabulka IV: Závislost množství přídatku Zn do substrátu na obsah Zn v plodnici



Grafy III: Závislost mezi přidavkem Zn a celkovou BE

Proměnná	Korelace Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	BE KZ 91	BE KZ 92	BE KZ 111	BE KZ 120
Množství Zn v substrátu (mg/kg)	-0,843915	-0,843736	-0,765479	-0,776804

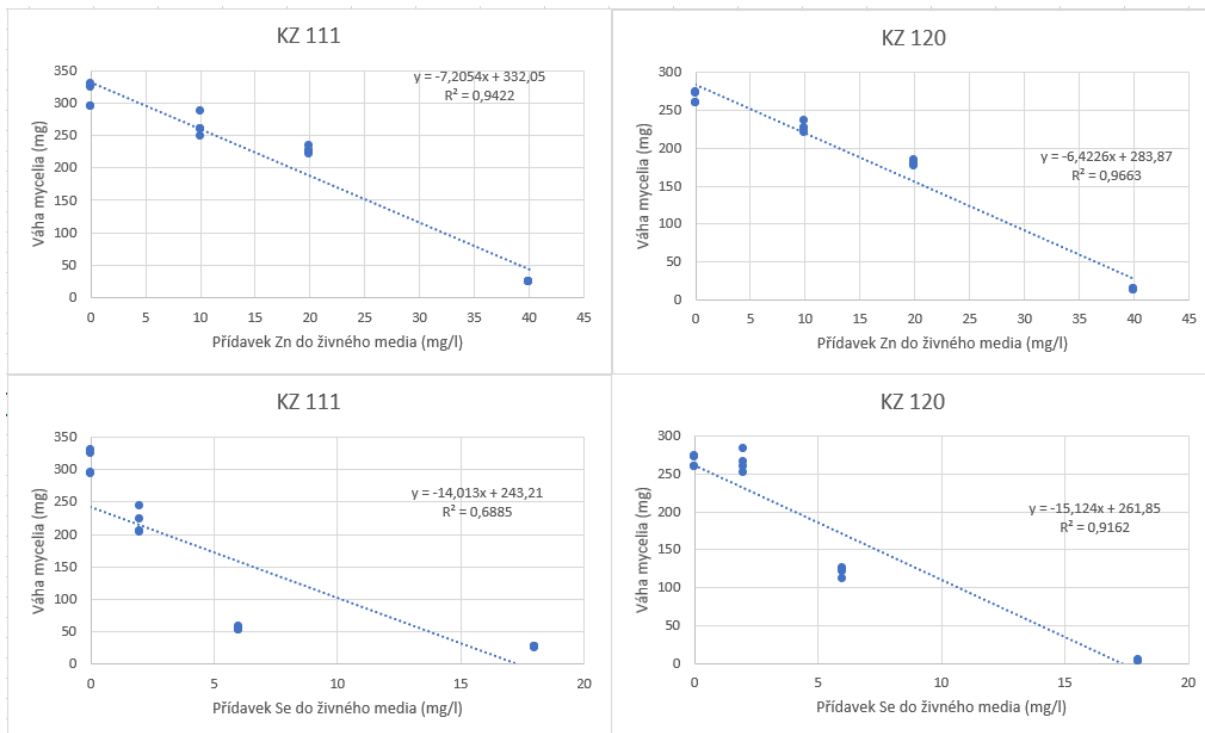
Tabulka V: Závislost množství přidavku Zn do substrátu na BE



Grafy IV: Závislost mezi přidavkem Zn a raností 1. vlny

Proměnná	Korelace Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$			
	Ranost KZ 91	Ranost KZ 92	Ranost KZ 111	Ranost KZ 120
Množství Zn v substrátu (mg/kg)	0,392792	0,694365	0,663856	0,871574

Tabulka VI: Závislost množství přidavku Zn do substrátu na ranost 1. vlny



Grafy V: Závislost mezi přidavkem Zn a Se na výnos mycelia

Proměnná	Korelace Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$	
	Mycelium KZ 120	Mycelium KZ 111
Množství Zn v substrátu (mg/l)	-0,983010	-0,970664

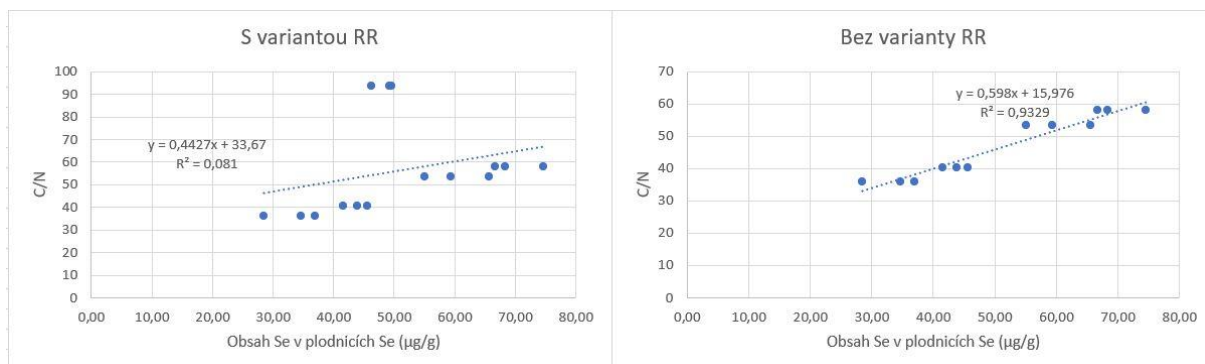
Tabulka VII: Závislost množství přidavku Zn do živného média na výnos mycelia

Proměnná	Korelace Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$	
	Mycelium KZ 111	Mycelium KZ 120
Množství Se v substrátu (mg/kg)	-0,829747	-0,957178

Tabulka VIII: Závislost množství přidavku Se do živného média na výnos mycelia

Proměnná	Korelace Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$	
	Celkové BE	Celkové BE bez RR
C/N	-0,071130	-0,195642047

Tabulka IX: Závislost C/N substrátu na BE



Grafy VI: Závislost mezi poměrem C/N a obsahem Se v plodnicích

Proměnná	Korelace Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$	
	Se v plodnici	Se v plodnici bez RR
C/N	0,284536	0,965869056

Tabulka X: Závislost C/N substrátu na množství Se v plodnici

Kmen	Množství přídavku Se do substrátu (mg/kg)	Výnos 1. vlna (Průměr)	Výnos 2. vlna (Průměr)	Výnos celkový (g) (Průměr)	Biologická efektivita (%) (Průměr)	Počet dnů od vložení do 1. sklizně (dny) (Průměr)	Počet dnů od vložení do 2. sklizně (dny) (Průměr)	N
KZ 91	0	108,15±23,43	90,04±19,53	198,19±25,65	27,53±3,56	12,00±0,94	20,00±2,41	3
KZ 91	2	168,63±23,43	96,75±19,53	265,37±25,65	36,86±3,56	14,50±0,94	25,50±2,41	3
KZ 91	6	124,94±23,43	79,09±19,53	204,03±25,65	28,34±3,56	12,00±0,94	20,00±2,41	3
KZ 91	18	111,05±23,43	103,05±19,53	214,10±25,65	29,74±3,56	12,00±0,94	20,00±2,41	3
KZ 92	0	85,11±14,82	92,62±12,35	177,73±16,22	24,68±2,25	15,20±0,60	27,00±1,52	5
KZ 92	2	90,89±16,57	114,35±13,81	205,24±18,14	28,51±2,52	16,25±0,67	26,00±1,70	4
KZ 92	6	51,83±14,82	100,36±12,35	152,20±16,22	21,14±2,25	17,00±0,60	26,00±1,52	5
KZ 92	18	84,53±14,82	100,36±12,35	184,89±16,22	25,68±2,25	16,00±0,60	29,00±1,52	5
KZ 111	0	119,84±16,57	50,27±13,81	170,11±18,14	23,63±2,52	17,00±0,67	27,25±1,70	4
KZ 111	2	161,80±16,57	43,61±13,81	205,41±18,14	28,53±2,52	17,00±0,67	26,00±1,70	4
KZ 111	6	180,74±16,57	59,95±13,81	240,69±18,14	33,43±2,52	17,00±0,67	27,25±1,70	4
KZ 111	18	143,99±16,57	50,04±13,81	194,04±18,14	26,95±2,52	17,00±0,67	26,00±1,70	4
KZ 120	0	162,71±16,57	102,28±13,81	264,98±18,14	36,80±2,52	14,75±0,67	28,50±1,70	4
KZ 120	2	191,38±14,82	132,48±12,35	323,86±16,22	44,98±2,25	13,60±0,60	30,00±1,52	5
KZ 120	6	172,32±14,82	108,84±12,35	281,16±16,22	39,05±2,25	15,80±0,60	32,00±1,52	5
KZ 120	18	183,07±14,82	105,69±12,35	288,76±16,22	40,11±2,25	15,80±0,60	30,00±1,52	5

Tabulka XI: 2. pokus růstové parametry

Kmen	Množství přídavku Se do substrátu (mg/kg)	Se ($\mu\text{g/g}$) (Průměr)	N
KZ 91	0	0,48±0,02	3
KZ 91	2	15,93±1,03	3
KZ 91	6	61,12±2,11	3
KZ 91	18	167,81±4,25	3
KZ 92	0	0,44±0,01	3
KZ 92	2	21,57±0,42	3
KZ 92	6	78,37±3,91	3
KZ 92	18	159,76±3,52	3
KZ 111	0	0,27±0,03	3
KZ 111	2	26,68±0,79	3
KZ 111	6	86,41±2,61	3
KZ 111	18	217,45±7,90	3
KZ 120	0	0,37±0,02	3
KZ 120	2	11,70±0,17	3
KZ 120	6	50,51±2,76	3
KZ 120	18	129,52±6,41	3

Tabulka XII: 2. pokus, stanovení selenu v plodnicích

Kmen	Množství přídavku Zn do substrátu (mg/kg)	Výnos 1. vlna (g) (Průměr)	Výnos 2. vlna (g) (Průměr)	Výnos celkový (g) (Průměr)	Celková BE (%) (Průměr)	Počet dnů od vložení do 1. sklizeně (dny) (Průměr)	Počet dnů od vložení do 2. sklizeně (dny) (Průměr)	N
KZ 91	0	169,81±14,91	85,80±14,85	255,61±17,33	35,50±2,41	17,00±0,75	27,00±1,37	4
KZ 91	10	122,81±13,34	110,00±13,28	232,81±15,50	32,34±2,15	14,60±0,67	25,80±1,22	5
KZ 91	20	66,29±14,91	129,15±14,85	195,44±17,33	27,14±2,41	17,00±0,75	27,00±1,37	4
KZ 91	40	42,38±13,34	84,57±13,28	126,96±15,50	17,63±2,15	17,00±0,67	26,80±1,22	5
KZ 92	0	145,89±14,91	135,13±14,85	281,02±17,33	39,03±2,41	14,75±0,75	25,25±1,37	4
KZ 92	10	127,22±14,91	146,50±14,85	273,72±17,33	38,02±2,41	15,25±0,75	26,25±1,37	4
KZ 92	20	168,16±14,91	62,55±14,85	230,71±17,33	32,04±2,41	14,00±0,75	24,50±1,37	4
KZ 92	40	58,99±14,91	94,97±14,85	153,96±17,33	21,38±2,41	20,00±0,75	29,50±1,37	4
KZ 111	0	133,99±14,91	124,58±14,85	258,56±17,33	35,91±2,41	16,25±0,75	27,25±1,37	4
KZ 111	10	105,18±13,34	92,72±13,28	197,90±15,50	27,49±2,15	17,60±0,67	32,60±1,22	5
KZ 111	20	141,49±14,91	89,80±14,85	231,29±17,33	32,12±2,41	17,75±0,75	30,25±1,37	4
KZ 111	40	60,75±14,91	63,16±14,85	123,91±17,33	17,21±2,41	21,00±0,75	35,00±1,37	4
KZ 120	0	246,59±13,34	107,86±13,28	354,45±15,50	49,23±2,15	13,00±0,67	24,80±1,22	5
KZ 120	10	185,36±14,91	121,38±14,85	306,73±17,33	42,60±2,41	13,00±0,75	23,75±1,37	4
KZ 120	20	186,83±13,34	130,80±13,28	317,63±15,50	44,12±2,15	15,80±0,67	27,60±1,22	5
KZ 120	40	45,16±13,34	169,18±13,28	214,34±15,50	29,77±2,15	17,00±0,67	29,00±1,22	5

Tabulka XIII: 3. pokus růstové parametry

Kmen	Množství přídavku Zn do substrátu (mg/kg)	Zn (µg/g) (Průměr)	N
KZ 91	0	60,07±4,14	3
KZ 91	10	94,08±3,42	3
KZ 91	20	91,18±4,77	3
KZ 91	40	117,64±1,95	3
KZ 92	0	42,35±0,52	3
KZ 92	10	58,67±1,28	3
KZ 92	20	62,52±2,59	3
KZ 92	40	48,35±0,40	3
KZ 111	0	76,62±1,64	3
KZ 111	10	115,99±2,05	3
KZ 111	20	75,39±9,78	3
KZ 111	40	105,67±5,01	3
KZ 120	0	57,68±0,66	3
KZ 120	10	68,49±0,85	3
KZ 120	20	77,38±0,39	3
KZ 120	40	125,22±11,36	3

Tabulka XIV: 3. pokus, stanovení obsahu zinku v plodnicích

Varianta	plodnice v sáčku (g) (Průměr)	Výnos 1. vlna (g) (Průměr)	Výnos 2. vlna (g) (Průměr)	Výnos 3. vlna (g) (Průměr)	Výnos celkový (g) (Průměr)	Celkové BE (%) (Průměr)
120-RR	65,12±32,30	186,34±8,92	170,02±16,19	73,96±9,12	495,44±25,22	68,81±3,50
120-RP	67,02±14,00	135,94±12,71	121,16±12,71	94,00±15,21	418,12±13,96	58,07±1,94
120-SS	98,32±17,75	256,38±27,50	145,62±17,12	139,26±9,38	639,58±26,21	88,83±3,64
120-O	121,45±9,76	143,23±23,72	102,05±4,29	99,58±10,83	466,30±28,18	64,76±3,91
120-S	105,30±19,46	128,14±6,87	115,58±11,01	102,36±24,12	451,38±15,40	62,69±2,14
Varianta	Počet dnů od fruktifikace do 1. sklizně (dny) (Průměr)	Počet dnů od započetí fruktifikace do 2. sklizně (dny) (Průměr)	Počet dnů od započetí fruktifikace do 3. sklizně (dny) (Průměr)	N		
120-RR	10,40±0,24	24,00±1,22	42,20±2,40	5		
120-RP	10,20±0,20	24,00±1,22	36,00±1,22	5		
120-SS	10,00±0,00	22,00±1,00	34,00±1,00	5		
120-O	10,00±0,00	21,00±0,00	33,00±0,00	4		
120-S	10,20±0,20	22,00±1,00	34,00±1,00	5		

Tabulka XV: 5. pokus, růstové parametry

Varianta	Se (µg/g) (Průměr)	N
120-S	60,03±2,20	3
120-O	69,89±2,20	3
120-SS	43,71±2,20	3
120-RR	48,38±2,20	3
120-RP	33,38±2,20	3

Tabulka XVI: 5. pokus, stanovení obsahu selenu

Kmen	Množství přídatku Se do media (mg/l)	Váha mycelia (mg) (Průměr)	N
KZ 111	0	310,55±9,47	4
KZ 111	2	218,20±9,52	4
KZ 111	6	54,10±1,45	4
KZ 111	18	25,65±0,60	4
KZ 120	0	266,10±3,75	4
KZ 120	2	264,83±6,79	4
KZ 120	6	120,45±3,50	4
KZ 120	18	2,83±0,27	4

Tabulka XVII: 4. pokus, výnos mycelia s roztokem seleničitanu sodného

Kmen	Množství přídavku Se do media (mg/l)	Se ($\mu\text{g/g}$) (Průměr)	N
KZ 111	0	0,19 \pm 0,03	3
KZ 111	2	459,18 \pm 28,85	3
KZ 111	6	5 185,36 \pm 79,49	3
KZ 111	18	20 682,74 \pm 686,25	3
KZ 120	0	0,06 \pm 0,01	3
KZ 120	2	309,18 \pm 20,89	3
KZ 120	6	1 658,10 \pm 73,21	3
KZ 120	18	69 461,96 \pm 5 720,63	3

Tabulka XVIII: 4. pokus, stanovení obsahu selenu v myceliu s roztokem seleničitanu sodného

Kmen	Množství přídavku Zn do media (mg/l)	Váha mycelia (mg) (Průměr)	N
KZ 111	0	310,55 \pm 9,47	4
KZ 111	10	263,53 \pm 8,38	4
KZ 111	20	225,63 \pm 2,79	4
KZ 111	40	24,10 \pm 0,36	4
KZ 120	0	266,10 \pm 3,75	4
KZ 120	10	226,95 \pm 3,47	4
KZ 120	20	179,98 \pm 1,62	4
KZ 120	40	12,85 \pm 0,53	4

Tabulka XIX: 4. pokus, výnos mycelia s roztokem síranu zinečnatého

Kmen	Množství přídavku Zn do media (mg/l)	Zn ($\mu\text{g/g}$) (Průměr)	N
KZ 111	0	41,35 \pm 2,02	3
KZ 111	10	1 582,83 \pm 22,74	3
KZ 111	20	2 746,80 \pm 7,24	3
KZ 111	40	6 588,32 \pm 77,49	3
KZ 120	0	45,80 \pm 2,01	3
KZ 120	10	1 919,06 \pm 113,02	3
KZ 120	20	3 669,34 \pm 63,49	3
KZ 120	40	6 551,39 \pm 36,82	3

Tabulka XX: 4. pokus, stanovení obsahu zinku v myceliu s roztokem síranu zinečnatého

Kmen	vývojová fáze	substrát	Se ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích (Průměr)	N
120	malá	O	68,91 \pm 0,98	3
120	malá	S	62,96 \pm 2,13	3
120	střední	O	69,05 \pm 3,66	3
120	střední	S	70,52 \pm 3,86	3
120	zralá	O	69,89 \pm 2,43	3
120	zralá	S	60,03 \pm 3,07	3

Tabulka XXI: 5. pokus, stanovení obsahu selenu v různých fázích

Kmen	vývojová fáze	Množství přídavku Se do substrátu (mg/kg)	Se ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích (Průměr)	N
91	malá	0	0,37 \pm 0,03	3
91	malá	2	17,43 \pm 1,06	3
91	malá	6	68,70 \pm 1,59	3
91	malá	18	163,05 \pm 5,23	3
91	střední	0	0,33 \pm 0,02	3
91	střední	2	21,14 \pm 1,83	3
91	střední	6	68,77 \pm 1,25	3
91	střední	18	217,95 \pm 7,21	3
91	zralá	0	0,48 \pm 0,02	3
91	zralá	2	15,93 \pm 1,03	3
91	zralá	6	61,12 \pm 2,11	3
91	zralá	18	167,81 \pm 4,25	3

Tabulka XXII: 2. pokus, stanovení obsahu selenu v různých fázích

Vlna	Se ($\mu\text{g/g}$) v plodnicích (Průměr)	N
1.	48,38 \pm 1,68	3
2.	48,54 \pm 1,68	3

Tabulka XXIII: 5. pokus varianta RR, stanovení obsahu selenu v různých vlnách

kmen	Přídavek	Výnos (g) (Průměr)	Biologická efektivita (%) (Průměr)	N
KZ 11	P	475,00 \pm 0,00	48,72 \pm 0,00	1
KZ 11	O	392,52 \pm 28,13	40,26 \pm 2,89	6
KZ 91	P	445,08 \pm 17,72	45,65 \pm 1,82	4
KZ 91	O	397,29 \pm 39,31	40,75 \pm 4,03	7
KZ 92	P	151,80 \pm 0,00	15,57 \pm 0,00	1
KZ 92	O	304,90 \pm 48,54	31,27 \pm 4,98	5
KZ 111	P	372,87 \pm 27,61	38,24 \pm 2,83	3
KZ 111	O	335,30 \pm 37,88	34,39 \pm 3,89	6

Tabulka XXIV: Pokus 1., růstové parametry

Kmen	Přídavek Se do substrátu (mg/kg)	Využitelnost Se z přídatku (%)
KZ 91	2	6,72
KZ 91	6	6,36
KZ 91	18	5,18
KZ 92	2	4,90
KZ 92	6	3,38
KZ 92	18	3,75
KZ 111	2	10,79
KZ 111	6	13,01
KZ 111	18	8,70
KZ 120	2	5,60
KZ 120	6	7,25
KZ 120	18	6,59

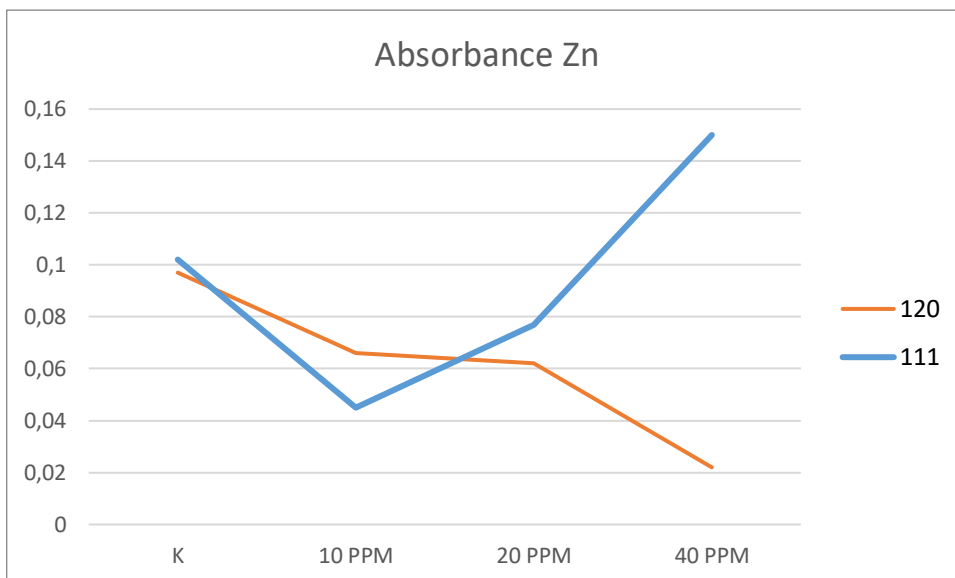
Tabulka XXV: Efektivita využití selenu z přídatku v 1. vlně 2. pokus

Kmen	Přídavek Zn do substrátu (mg/kg)	Využitelnost Zn z přídatku (%)
KZ 91	10	5,78
KZ 91	20	1,51
KZ 91	40	0,62
KZ 92	10	3,73
KZ 92	20	2,63
KZ 92	40	0,36
KZ 111	10	6,10
KZ 111	20	2,67
KZ 111	40	0,80
KZ 120	10	6,35
KZ 120	20	3,61
KZ 120	40	0,71

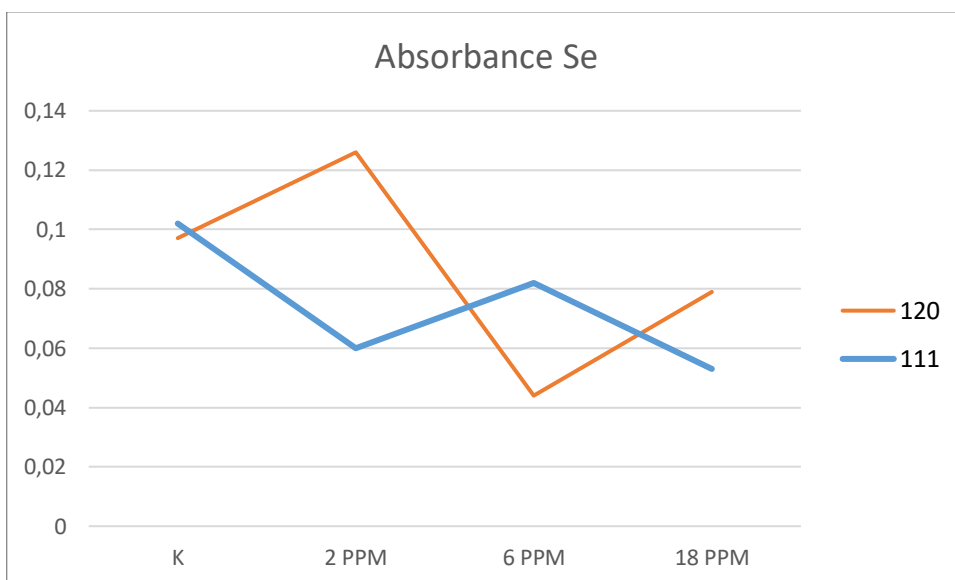
Tabulka XXVI: Efektivita využití zinku z přídatku v 1. vlně 2. pokus

Varianta	Využitelnost Se z přídatku (%)
120-S	12,82
120-O	16,68
120-SS	18,68
120-RR	15,02
120-RP	7,56

Tabulka XXVII: Efektivita využití selenu z přídatku v 1. vlně 5. pokus



Graf VII: Absorbance při obohacování zinkem



Graf VIII: Absorbance při obohacování selenem



Obrázek I: Litrové láhve s prorůstající sadbou korálovce (Autor 2022)



Obrázek II: Prorůstající substrát korálovce (Autor 2022)



Obrázek III: Pěstební box (Autor 2022)



Obrázek IV: Korálovec ježatý kmen KZ 11 (Autor 2022)



Obrázek V: Korálovec ježatý kmen KZ 91 (Autor 2022)



Obrázek VI: Korálovec ježatý kmen KZ 92 (Autor 2022)



Obrázek VII: Korálovec ježatý kmen KZ 111 (Autor 2022)



Obrázek VIII: Korálovec ježatý kmen KZ 120



Obrázek IX: Korálovec ježatý kmen KZ 120 ovlivněný koncentrací $ZnSO_4$ (Nahoře kontrola, dole varianta 40 mg/kg)



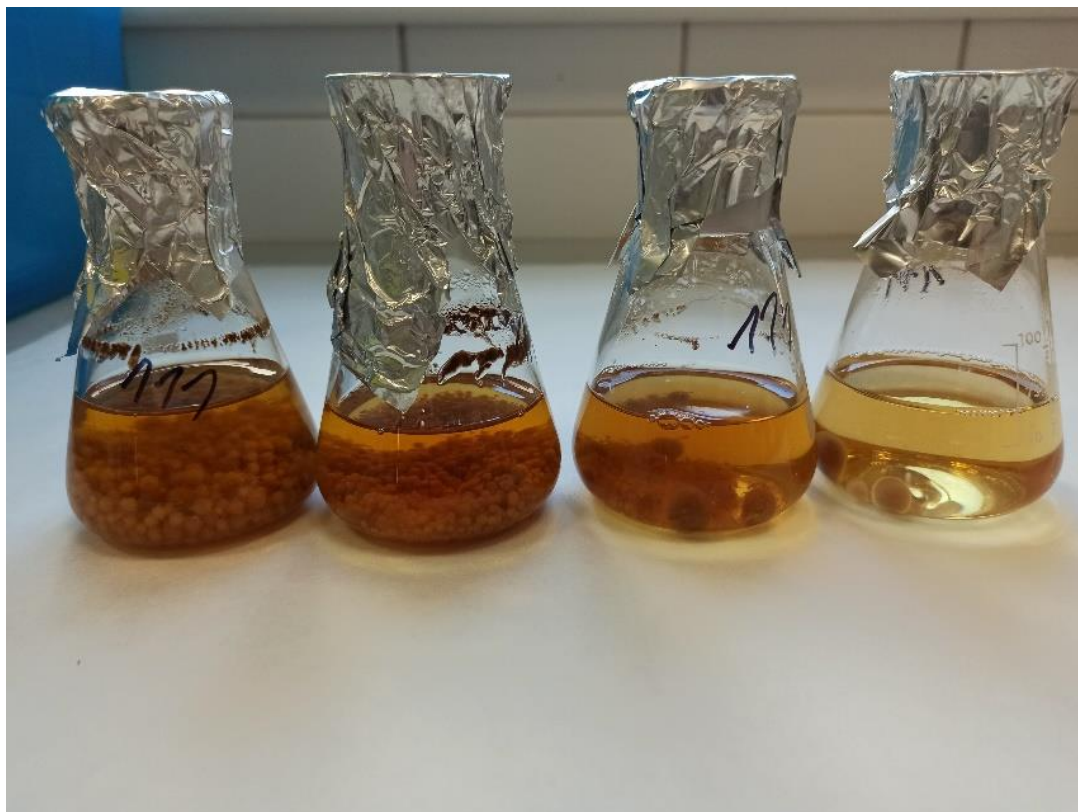
Obrázek X: Submerzní kultivace korálovce



Obrázek XI: Kmen KZ 120 obohacení ZnSO_4



Obrázek XII: Kmen KZ 120 obohacení Na_2SeO_3



Obrázek XIII: Kmen KZ 111 obohacení Na_2SeO_3



Obrázek XIV: Kmen KZ 111 obohacení ZnSO_4



Obrázek XV: Kmen KZ 120, 3. sklizňová vlna varianty RR