

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zahradnictví



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Příjem selenu a zinku houbami šitake (*Lentinula edodes*) a
lesklokorka (*Ganoderma lucidum*) kultivovanými na
různých substrátech s cílem využití plodnic hub jako
doplňků stravy**

Diplomová práce

Bc. Hana Kadlecová

Výživa a potraviny

Ing. Ivan Jablonský, CSc.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Příjem selenu a zinku houbami šiitake (*Lentinula edodes*) a lesklokorka (*Ganoderma lucidum*) kultivovanými na různých substrátech s cílem využití plodnic hub jako doplňků stravy“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26. 04. 2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Ivanovi Jablonskému, CSc. za odborné vedení práce, rady, připomínky, předané zkušenosti a poskytnuté zdroje literatury. Ing. Romanovi Blehovi, Ph.D. za jeho vstřícnost, čas a pomoc při mletí lesklokorek na VŠCHT. Ing. Lukášovi Prausovi, Ph.D. za zprostředkování výsledků a Ing. Lucii Wiesnerové za pomoc při zakládání pokusu submerzní kultivace lesklokorky lesklé. A také svým rodičům za podporu během celého studia.

Příjem selenu a zinku houbami šiitake (*Lentinula edodes*) a lesklokorka (*Ganoderma lucidum*) kultivovanými na různých substrátech s cílem využití plodnic hub jako doplňků stravy

Souhrn

Hub si ceníme především pro svou jedinečnou chuť, ale i pro nutriční a medicínální vlastnosti, které jsou jim připisovány. Kromě toho, že tvoří podstatný zdroj živin, jsou považovány za funkční potraviny a mohou poskytovat mnoho zdravotních benefitů, které jsou dány přítomností řady bioaktivních látek.

V rámci diplomové práce byla řešena problematika pěstování lesklokorek a houževnatce jedlého na substrátech fortifikovaných různými koncentracemi seleničitanu sodného (Na_2SeO_3), selenanu sodného (Na_2SeO_4) a síranu zinečnatého (ZnSO_4) s předpokladem využití plodnic hub jako doplňků stravy. Pro pokusy byly vybrány tři různé druhy lesklokorek (*Ganoderma adspersum*, *Ganoderma lingzhi* a *Ganoderma lucidum*) a houba šiitake (*Lentinula edodes*). Pro pěstování hub na sypkých substrátech byly využity piliny listnatých stromů, kukuřičná vřetena a *Miscanthus*. Pro submerzní kultivaci *G. lucidum* byl jako živné médium použit 2% sladinový extrakt.

Práce sledovala příjem selenu, zinku a železa plodnicemi kultivovaných hub a ověřovala optimální koncentrace anorganických solí selenu a zinku v substrátu a jeho složení pro příjem těchto prvků plodnicemi hub. Nejvyšší bioakumulace selenu do plodnic bylo dosaženo u koncentrace 18 mg Se/kg substrátu, který se skládal z pilin listnatých stromů a 20% pšeničných otrub. U fortifikace substrátu síranem zinečnatým nebyly zjištěny výrazné změny v koncentracích zinku v plodnicích. Bylo zjištěno, že koncentrace selenu v plodnicích *L. edodes*, *G. adspersum*, *G. lingzhi* a *G. lucidum* se zvyšovala společně se zvyšující se koncentrací seleničitanu sodného v substrátu.

Distribuce selenu v plodnicích šiitake ukázala, že nejvyšší obsah selenu se nachází v kloboucích, a že termín zakládání pokusu neměl prokazatelný vliv na množství absorbovaného selenu. Práce ukázala, že šiitake pěstovaná na kukuřičných vřetenech přijala do plodnic relativně vysoký podíl železa a zinku, než tomu bylo u pilin listnatých stromů, ale současně absorbovala nižší množství selenu.

Maximální výnos u šiitake byl pozorován při fortifikaci substrátu koncentrací 18 mg Se/kg ($247,0 \pm 17,6$ g/2 kg substrátu). Nejvyšší výnos šiitake rostoucích na různých substrátech obohacených 6 mg Se/kg substrátu byl zaznamenán u pilin listnatých stromů a 20% pšeničných otrub ($244,4 \pm 48,5$ g/2,6 kg substrátu). V případě submerzní kultivace byl nejvyšší nárůst biomasy pozorován u *G. lucidum* fortifikované seleničitanem sodným, a to ve všech variantách a s výraznějším rozdílem u nejvyšší koncentrace (18 mg Se/l). Naopak u obohacení média selenanem sodným byl u stejné koncentrace v porovnání se seleničitanem sodným přírůstek biomasy nejmenší.

Klíčová slova: *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, selen, zinek, substrát

Intake of selenium and zinc by shiitake (*Lentinula edodes*) and reishi (*Ganoderma lucidum*) cultivated on various substrates in order to use fungal fruiting bodies as food supplements

Summary

Mushrooms are highly appreciated for their flavor and have been well studied due to their nutritional and medicinal properties. Besides being an excellent source of nutrients, mushrooms are considered functional foods and can provide health benefits by presenting bioactive compounds.

The diploma thesis dealt with the issue of growing reishi and shiitake on substrates supplemented with different concentrations of sodium selenite (Na_2SeO_3), sodium selenate (Na_2SeO_4), and zinc sulfate (ZnSO_4) to use fungal fruiting bodies as food supplements. There were three different species of reishi (*Ganoderma adspersum*, *Ganoderma lingzhi*, and *Ganoderma lucidum*) and shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) selected for the experiments. Sawdust of deciduous trees, corn spindles, and *Miscanthus* were used to grow mushrooms on loose substrates. For submerged cultivation of *G. lucidum*, was used 2% malt extract as an agar medium.

This study evaluated the intake of selenium, zinc, and iron by fungal fruiting bodies and verified the most appropriate concentration of sodium selenite and zinc sulfate in the substrate and its composition. The highest level of selenium absorption in fruiting bodies was obtained by adding 18 mg Se/kg of sodium selenite and when the substrate consisted of deciduous tree sawdust and 20% wheat bran. There were not found significant changes in zinc concentrations in fruiting bodies when the substrate was enriched with zinc sulfate. It was found that the selenium concentrations of *L. edodes* and *G. adspersum*, *G. lingzhi*, and *G. lucidum* increased with increasing sodium selenite added in the substrates.

The distribution of selenium in the fruiting bodies of shiitake showed that the highest selenium content was found in caps and also the time when the experiment was started had no significant effect on the amount of selenium absorbed. The work showed that shiitake cultivated on corn spindles accumulated a slightly higher amount of iron and zinc in the fruiting bodies than those cultivated on sawdust, but at the same time accumulated a lower amount of selenium.

The maximum yield of shiitake mushroom was observed when the substrate was enriched with 18 mg Se/kg (247.0 ± 17.6 g/2 kg substrate). The highest yield of shiitake growing on different substrates was obtained by adding 6 mg Se/kg of sodium selenite and when the substrate consisted of deciduous tree sawdust and 20% wheat bran (244.4 ± 48.5 g/2.6 kg of the substrate). In the case of submerged cultivation, the highest increase in biomass of *G. lucidum* was found in all variants when the medium was fortified with sodium selenite. The greatest biomass production was found after the medium had been supplemented with 18 mg Se/l. In contrast, the lowest biomass was found in the case of fruiting bodies growing on a medium with the highest concentration of 18 mg Se/l of sodium selenate addition.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, selenium, zinc, substrate

1 Úvod	9
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	10
3 Literární rešerše.....	11
3.1 <i>Ganoderma lucidum</i> (lesklokorka lesklá)	11
3.1.1 Morfologie	11
3.1.2 Nutriční hodnota <i>G. lucidum</i>	12
3.1.3 Bioaktivní látky <i>G. lucidum</i>	12
3.1.4 Podmínky růstu podhoubí a tvorby plodnic.....	14
3.1.5 Kultivace <i>G. lucidum</i> na sypkých substrátech.....	15
3.1.6 Submerzní kultivace <i>G. lucidum</i>	16
3.2 <i>Lentinula edodes</i> (houževnatec jedlý)	16
3.2.1 Morfologie	17
3.2.2 Nutriční hodnota <i>L. edodes</i>	17
3.2.3 Bioaktivní látky <i>L. edodes</i>	18
3.2.4 Podmínky růstu podhoubí a tvorby plodnic.....	19
3.2.5 Kultivace <i>L. edodes</i> na sypkých substrátech	20
3.2.6 Kultivace <i>L. edodes</i> dřevěných špalcích.....	21
3.3 Selen.....	21
3.3.1 Nedostatek selenu	22
3.3.2 Zdroje selenu	22
3.4 Fortifikace substrátu selenem	22
3.5 Zinek.....	23
3.5.1 Nedostatek zinku	24
3.5.2 Zdroje zinku.....	24
3.6 Fortifikace substrátu zinkem	24
3.7 Železo.....	25
3.7.1 Nedostatek železa	26
3.7.2 Zdroje železa.....	26
4 Metodika	27
4.1 Materiály.....	27
4.1.1 Sadba a kmeny	27
4.1.2 Substrát	27
4.1.3 Chemikálie.....	27
4.1.4 Kultivační nádoby.....	27
4.1.5 Propařovací komora.....	27
4.1.6 Oscilační mlýn MM 301	28
4.2 Metody.....	28
4.2.1 Příprava sadby	28
4.2.2 Příprava substrátu	28

4.2.3	Očkování.....	28
4.2.4	Prorůstání mycelia a jeho měření.....	29
4.2.5	Fruktifikace.....	29
4.2.6	Sklizeň.....	29
4.2.7	Mletí.....	29
4.2.8	Mineralizace vzorku.....	29
4.2.9	Vyhodnocení dat.....	30
4.2.10	Pokus č. 1.....	30
4.2.11	Pokus č. 2.....	31
4.2.12	Pokus č. 3.....	32
4.2.13	Pokus č. 4.....	34
4.2.14	Pokus č. 5.....	34
4.2.15	Pokus č. 6.....	35
5	Výsledky.....	37
5.1	Pokus č. 1 – Vliv složení a obohacení substrátu různými koncentracemi seleničitanu sodného (Na₂SeO₃) na jeho příjem myceliem <i>G. adspersum</i>, <i>G. lingzhi</i> a <i>L. edodes</i> a koncentraci selenu, zinku a železa v plodnicích.....	37
5.1.1	Porovnání příjmu selenu plodnicemi hub <i>G. adspersum</i> , <i>G. lingzhi</i> a <i>L. edodes</i>	40
5.1.2	Porovnání příjmu selenu různými částmi plodnic <i>L. edodes</i>	41
5.2	Pokus č. 2 – Vliv složení a obohacení substrátu různými koncentracemi seleničitanu sodného (Na₂SeO₃) a síranu zinečnatého (ZnSO₄) na jeho příjem myceliem <i>G. lucidum</i> a koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích.....	42
5.2.1	Porovnání příjmu selenu různými druhy lesklokorek pěstovanými na různých substrátech.....	44
5.3	Pokus č. 3 – Vliv složení a obohacení substrátu různými koncentracemi síranu zinečnatého na jeho příjem myceliem <i>G. lucidum</i> a <i>G. lingzhi</i> a koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích.....	45
5.3.1	Porovnání příjmu zinku různými druhy lesklokorek pěstovanými v různých časových obdobích na substrátech fortifikovaných síranem zinečnatým (ZnSO ₄). 47	47
5.4	Pokus č. 4 – Vliv obohacení submerzní kultivace pěti různými koncentracemi selenanu a seleničitanu sodného na jeho příjem myceliem a přírůstek biomasy u <i>G. lucidum</i>.....	48
5.5	Pokus č. 5 – Vliv složení a obohacení substrátu třemi různými koncentracemi seleničitanu sodného (Na₂SeO₃) na jeho příjem myceliem <i>L. edodes</i> a výnos plodnic	49
5.5.1	Porovnání příjmu selenu různými částmi plodnic <i>L. edodes</i>	51
5.5.2	Porovnání příjmu selenu <i>L. edodes</i> pěstovanou v různých časových obdobích	52
5.6	Pokus č. 6 – Vliv složení a obohacení různých substrátů střední koncentrací (6 mg/kg) seleničitanu sodného (Na₂SeO₃) a jeho příjem myceliem <i>L. edodes</i> a výnos plodnic.....	53
5.6.1	Porovnání příjmu selenu myceliem <i>L. edodes</i> pěstovanou na různých substrátech obohacené střední koncentrací (6 mg Se/kg) Na ₂ SeO ₃	56
6	Diskuze.....	57

7 Závěr	61
8 Literatura.....	62
9 Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Houby jsou jednou z nejrozmanitějších a nejvýznamnějších skupin organismů, které osidlují planetu. Jako nepostradatelná složka ekosystémů se podílí na rozkladu minerálních živin. Houby nejsou součástí říše rostlin, zvířat, bakterií ani prvoků, ale tvoří svoji samostatnou říši. Zástupci kmene Basidiomycota a Ascomycota při přesné kombinaci různých abiotických podmínek a okolní flóry produkují identifikovatelné plodnice zvané houby. Houby jsou viditelné pouhým okem a mohou růst buď nad zemí, nebo pod zemí.

Produkce hub je díky změně zdravého životního stylu celosvětově na vzestupu. V roce 2017 zveřejnila FAO (Food and Agricultural Organization) statistiku, ve které uvádí, že 30 zemí produkuje více než 10 000 tun hub. Celková produkce hub dle FAO je přibližně 10,2 milionů tun ročně. Odhaduje se, že přibližně 80 % světové produkce hub bylo v roce 2013 kultivováno v plastových sáčcích.

Již před 400 miliony lety se začínají objevovat první houby, které se vyskytovaly společně se suchozemskými rostlinami jako parazité a saprofyty. Houby obsahují nutričně významné bioaktivní látky, které jsou po terapeutické stránce velmi prospěšné pro zdraví jedince v případě, že se organismus setká s patogeny nebo při léčbě mnohých zdravotních disbalancí a chorob. Uznávaný britský mykolog William Delisle Hay již dříve poukázal na to, že existují národy mykofilní a mykofobní. Mykofilní společnost houby od starověku uznává a vyhledává, naopak společnost mykofobní se projevuje strachem a averzí vůči houbám.

Každá houba má v zásadě různé specifické nutriční a ekologické požadavky pro svůj růst a vývoj. Některým druhům se velmi dobře daří v půdě a jiné ke své výživě využívají odumřelou organickou hmotu. Mnoho hub vytváří symbiotický vztah s kořeny vyšších rostlin. Většina nově ohlášených druhů hub pochází z tropických regionů s bohatou biodiverzitou. Tyto nově objevené houby jsou obvykle spojovány s původními stromy.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza: Příjem selenu, železa a zinku myceliem šiitake a lesklokorky je ovlivněn složením substrátu. Koncentrace solí stopových prvků ovlivňuje termín nasazení a výnos plodnic

Cíl: Ověřit optimální koncentrace solí, jejich vliv na jejich optimální obsah v jednotlivých částech plodnic šiitake (*Lentinula edodes*) a lesklokorky (*Ganoderma sp.*)

3 Literární rešerše

3.1 *Ganoderma lucidum* (lesklokorka lesklá)

Rod *Ganoderma*, do kterého se řadí *Ganoderma lucidum* (lesklokorka lesklá), zahrnuje nepřeberné množství druhů. Tyto houby se nacházejí po celém světě, liší se barvou a tvarem plodnic, specifičností hostitele nebo zeměpisným původem (Sharma et al. 2019). *G. lucidum* je saprotrofní houba (Salvatore et al. 2020), která nejčastěji roste na dubových stromech (Sharma et al. 2019). Existuje více než 100 druhů lesklokorek a přibližně 70 z nich se rozšířilo do Číny, Japonska a na Korejský poloostrov (Ren et al. 2021). Sharma et al. (2019) uvádí, že v taxonomických studiích bylo ohlášeno více než 300 druhů lesklokorek a většina z nich je přítomna v tropických oblastech.

Slovo *lucidus* pochází z latiny a do češtiny je překládáno jako lesklý či brilantní a odkazuje na lesklý povrch těchto hub. *G. lucidum* patří do kmene Basidiomycota, třídy Agaromycetes a čeledi *Ganodermataceae* (Sharma et al. 2019). Zatímco v Japonsku jsou houby z čeledi *Ganodermataceae* označovány jako reishi nebo mannentake, v Číně se objevují pod názvem lingzhi. V čínštině představuje pojem lingzhi kombinaci duchovní energie a podstatu nesmrtnosti a znamená úspěch, pohodu, božskou moc a dlouhověkost (Wachtel-Galor et al. 2011).

Tento rod hub je běžně konzumován v Asii a v tradiční čínské medicíně má silné postavení již dva tisíce let (Ren et al. 2021). Se svými farmakologickými účinky, které převyšují její nutriční hodnotu, se řadí k léčivým houbám. V orientální medicíně má *G. lucidum* široké využití pro obecnou podporu zdraví a dlouhověkost (Wachtel-Galor et al. 2011).

V Číně, Japonsku, Koreji a dalších asijských zemích je považována za „houbu nesmrtnosti“ (Salvatore et al. 2020). Lesklokorka lesklá je využívána pro své příznivé účinky zejména s ohledem na modulaci imunitního systému a inhibici růstu tumorů. Navíc se široce používá jako analgetikum, hemostatikum, diuretikum, antitusikum a jako protizánětlivý a výživný prostředek během léčby tradičními čínskými bylinkami (Li et al. 2020). Dnes si *G. lucidum* získává mnohem větší pozornost. Její farmakologické účinky jsou připisovány schopnosti této houby produkovat různé bioaktivní látky, mezi které se řadí polysacharidy, triterpeny, proteiny, nukleosidy, triglyceridy a minerální soli (Salvatore et al. 2020). Nejvýraznější skupinu biologicky aktivních látek představují polysacharidy, které mají antiulcerogenní, protinádorové, protizánětlivé, imunostimulační, hypoglykemické a další účinky (Wachtel-Galor et al. 2011). Navíc je tato houba známá svými kardioprotektivními účinky, snižuje krevní tlak a cholesterol a mimo jiné moduluje aktivitu jaterních enzymů (Sliva 2009).

3.1.1 Morfologie

Mycelium *G. lucidum* je světlé a bílé, obsahuje hyfy, které měří v průměru 1–3 μm . V různých částech mycelia jsou strukturní a morfologické rozdíly. Lineární buňky na špičce hyf jsou úzké a dosahují průměrně pouze 1 μm . Buněčná stěna je úzká a průhledná, protoplazma jednotná a hustá. Aktivní části, které vytvářejí pohyb v myceliu a jeho prodloužení, odpovídají buňkám na špičce hyf. Prostřední buňky hyf jsou o něco silnější s pevnější buněčnou stěnou a

řidší cytoplazmou. Koncové lineární buňky jsou v porovnání silnější a obsahují rozptýlený zrnitý materiál (Montoya et al. 2020).

Plodnice *G. lucidum* mají dřevitou texturu s lesklým povrchem, čímž vytváří dojem, že jsou pokryté vrstvou laku (Wachtel-Galor et al. 2011). Velikost plodnic je v průměru od 30 do 250 mm. Plodnice jsou masité, korkovité a lehce nažloutlé během jejich formování (Sharma et al. 2019). Při jejich růstu postupně hnědnou až do fáze, kdy červenají nebo se u nich objevují různé odstíny tmavě hnědého zbarvení, a to značí jejich zralost (Montoya et al. 2020). Barva může být v červených, třešňově červených, červenohnědých nebo červenočerných odstínech (Sharma et al. 2019). Tenké okraje plodnic se zpravidla mírně ohýbají směrem dolů (Montoya et al. 2020).

Klobouky jsou ploché, zaoblené a připomínají tvar ledviny (Montoya et al. 2020). Třeň je lesklý, nepravidelně zkroucený s velikostí 50–120 × 10–20 mm a předpokládá stejnou či tmavší barvu jako klobouk (Sharma et al. 2019). Spory jsou hnědé a oválné. Jejich rozměry dosahují 8,5–11,5 × 5,0–7,0 μm (Montoya et al. 2020).

3.1.2 Nutriční hodnota *G. lucidum*

Obecně jsou houby tvořeny především vodou, která dosahuje až 90 % celkové hmotnosti hub. Zbylých 10 % je tvořeno 10–40 % bílkovin, 2–8 % tuků, 3–28 % sacharidů, 3–32 % vlákniny a 8–10 % prachu. Nachází se v nich zdroj vitamínů, minerálních látek, a to především draslíku, vápníku, fosforu, hořčíku, selenu, železa, zinku a mědi. Proteiny hub obsahují všechny esenciální aminokyseliny a jsou bohaté především na lysin a leucin (Wachtel-Galor et al. 2011).

Pro *G. lucidum* bylo zjištěno, že obsahuje 7–8 % hrubého proteinu, 3–5 % tuků, 26–28 % sacharidů, 59 % hrubé vlákniny a 1,8 % prachu (Sharma et al. 2019).

3.1.3 Bioaktivní látky *G. lucidum*

Houby obsahují velké množství bioaktivních látek, především jde o polysacharidy, glykoproteiny, terpenoidy, steroidy, fenoly, nukleotidy a jejich deriváty (Wachtel-Galor et al. 2011).

Hlavní sekundární metabolity izolované z různých druhů lesklokorek jsou součástí několika skupin biologicky aktivních látek. Tyto skupiny zahrnují ganodermickou kyselinu, aldehydy, ketony z C30 lanostanů, C24 a C25 lanostany, alkoholy, estery, glykosidy, laktony, C15 seskviterpenoidy, triterpeny, alkaloidy, steroidy, benzofurany a další řadu látek (Sharma et al. 2019). Kromě výše uvedených látek je *G. lucidum* zdrojem polyfenolů, steroidů, ligninu, lektinu, vitamínů, nukleosidů a organického germania. Rovněž obsahuje významné množství aminokyselin, zejména alanin, leucin, asparagovou a glutamovou kyselinu. Ačkoliv řada proteinů byla izolována komplexně s polysacharidy, některé byly izolovány ve své čisté formě. Příkladem je imunomodulační protein LZ-8 (Sliva 2009).

3.1.3.1 Polysacharidy

Polysacharidy reprezentují strukturně rozmanitou skupinu biologických makromolekul se širokým spektrem fyzikálně-chemických vlastností. Různé polysacharidy jsou extrahovány z plodnic, spor nebo mycelia. Polysacharidy jsou běžně získávány z hub prostřednictvím

extrakce horkou vodou následované srážením metanolem nebo etanolem. Strukturní analýzy těchto polysacharidů naznačují, že glukóza je jejich hlavní cukerný komponent. Nicméně polysacharidy *G. lucidum* jsou heteropolymery a mohou rovněž obsahovat xylózu, manózu, galaktózu a fruktózu v různých konfirmacích (Wachtel-Galor et al. 2011).

Na počátku 80. let 19. století byly v Japonsku jako první biologicky aktivní látky *G. lucidum* izolovány polysacharidy (Sliva 2009). Hlavní aktivní polysacharidy jsou (1→3)- β -glukany a (1→6)- β -D-glukany (Sharma et al. 2019). Ačkoliv je běžná molekulární hmotnost β -glukanů 1000 kDa, molekulární hmotnost bioaktivních polysacharidů *G. lucidum* je velmi variabilní a zpravidla nižší (Sliva 2009). Jejich molekulová hmotnost se obvykle pohybuje v rozmezí od 2 do 800 kDa (Ren et al. 2021).

Z plodnic, spor a mycelia *G. lucidum* bylo izolováno už více než 200 typů polysacharidů (Sliva 2009). Ren et al. (2021) uvádí, že bylo izolováno již 220 různých druhů polysacharidů této houby a jejich monosacharidy byly většinou složené z β -glukanů a jen malá část z nich z α -glukanů. Obvykle α -glukany vykazují mnohem nižší bioaktivitu (Ren et al. 2021). *G. lucidum* rovněž obsahuje velké množství ve vodě nerozpustných polysacharidů, a to převážně hetero- β -glukany, xylo- β -glukany, xylomano- β -glukany a mano- β -glukany (Sliva 2009).

Izolované β -D-glukany, heteropolysacharidy a glykoproteiny jsou považovány za hlavní činitele bioaktivity hub (Rajesh & Dhanasekaran 2015). Vykazují četné biologické aktivity, které zahrnují antioxidantní, protitumorové, protizánětlivé, imunomodulační, hypoglykemické nebo hypolipidemické účinky (Lu et al. 2020). Protinádorové aktivity byly zaznamenány hlavně u ve vodě rozpustných rozvětvených (1→3)- β -D-glukanů (Sliva 2009).

3.1.3.2 Terpenoidy

V přírodě bylo identifikováno už více než 20 000 terpenoidů. Ganodermická kyselina A a ganodermická kyselina B byly prvními izolovanými triterpenoidy *G. lucidum*. Od té doby bylo izolováno ještě dalších 130 triterpenů a stále jsou identifikovány a izolovány nové (Sliva 2009). Do skupiny triterpenů patří dále ganoderiol, lucidenová kyselina, lucialdehyd, ganolucidická kyselina, lanostanoid a ganodermantriol (Ahmad 2018).

Triterpeny obecně posilují imunitní systém a stejně jako polysacharidy, tak i triterpeny ukazují, že mají přímou cytotoxicitu proti nádorovým buňkám (Rajesh & Dhanasekaran 2015). Chemická struktura triterpenoidů *G. lucidum* je odvozena od lanostanu, který je metabolitem lanosterolu, jehož biosyntéza je založena na cyklizaci skvalenu. (Liang et al. 2019). Ganodermické kyseliny náleží do skupiny bioaktivních sloučenin, běžně se vyskytujících v *G. lucidum* a jedná se většinou o triterpenoidy lanostanového typu složených ze tří cyklohexanových a jednoho cyklopentanového kruhu. Deriváty těchto kyselin vykazují protitumorové, protizánětlivé a antidiabetické účinky přerušením buněčného cyklu prostřednictvím inhibice aktivity β -kateninu nebo proteinkinázy C. Také vykazují protizánětlivé účinky snížením produkce zánětlivých cytokinů (Ryu et al. 2021). Ganodermická kyselina A je schopna inhibovat uvolnění histaminu a zlepšovat tak funkci zažívacího traktu u člověka. Studie dále prokázaly, že tato kyselina může snižovat krevní tuky, krevní tlak a regulovat funkci jater (Liang et al. 2019). Předběžné studie naznačují, že spory obsahují podstatně více ganodermických kyselin než ostatní části houby a složení triterpenů v různých

částech plodnic je variabilní. Spory rovněž obsahují triterpenové laktony (Rajesh & Dhanasekaran 2015).

3.1.4 Podmínky růstu podhoubí a tvorby plodnic

3.1.4.1 Koncentrace plynů

Kyslík je esenciální prvek důležitý pro udržení základních životních procesů. Během celého vegetačního období je nutné absorbovat kyslík a uvolňovat oxid uhličitý. Pokud je u čeledi *Ganodermataceae* během vývoje plodnic koncentrace oxidu uhličitého vyšší než 0,1 %, dochází k abnormálnímu vývoji plodnic, které mají nepravidelný tvar. Pokud je koncentrace oxidu uhličitého nižší než 0,1 %, plodnice vytvářejí kruhový tvar, jsou silné a dostatečně velké (Zhou 2017).

Uhlík výrazně přispívá k životní aktivitě lesklokorky lesklé, dodává jí energii pro růst a vývoj, tvoří plodnice a mycelium. Zatímco pro pěstování mycelia se běžně využívá jako zdroj uhlíku glukóza nebo sacharóza, pro pěstování plodnic jsou hlavními zdroji uhlíku piliny tvrdého dřeva, kukuřičné klasy nebo rýžová a pšeničná sláma a jiné vedlejší zemědělské produkty (Zhou 2017).

Dusík je jedna z nejdůležitějších složek proteinů (Montoya et al. 2020). Pro růst a vývoj mycelia je jeho přítomnost nezbytná. Lesklokorka lesklá může přirozeně absorbovat aminokyseliny, močovinu, amoniak a další sloučeniny obsahující dusík. Pro pěstování plodnic jsou ve velké míře používány pšeničné otruby, rýžové otruby, kukuřičný prášek a ostatní sloučeniny obsahující dusík. Pro optimální růst a vývoj plodnic je vhodný poměr uhlíku a dusíku 20:1 (Zhou 2017).

3.1.4.2 pH

Optimální hodnoty pH pro růst a vývoj *G. lucidum* se pohybují mezi 4 a 8. Existují druhy lesklokorek, které mají svá optima mimo tuto hranici. Přívod kyslíku a pH přímo ovlivňuje metabolické procesy (Montoya et al. 2020).

3.1.4.3 Teplota

Teplota je nepostradatelná součást enzymatických reakcí, které ovlivňují růst a vývoj mycelia a plodnic. Optimální teplota pro růst mycelia *G. lucidum* je v rozmezí 25–30 °C, přičemž optimální teplota pro vývoj plodnic je při 24–28 °C. Pokud teplota klesne pod 20 °C, plodnice zežloutnou a ztvrdnou, teploty nad 35 °C inhibují růst a přežití houby (Zhou 2017).

3.1.4.4 Vlhkost vzduchu

Během prorůstání mycelia substrátem je optimální relativní vlhkost vzduchu mezi 60–65 %. Vlhkost vzduchu je důležité mít pod kontrolou a pravidelně ji sledovat kvůli případnému rozvoji plísní ve vnitřních prostorách. Ve fázi růstu plodnic je žádoucí zvýšení relativní vlhkosti vzduchu na 85–95 % (Zhou 2017).

3.1.4.5 Světlo

Během růstu *G. lucidum* se požadavky na světlo různí. Zároveň je na světlo i tmu velmi citlivá. Světlo inhibuje růst mycelia. Optimální přísun světla pro formování třeně a klobouku je v rozmezí 15 000–50 000 luxů (Zhou 2017).

3.1.5 Kultivace *G. lucidum* na sypkých substrátech

Při zpracování zemědělských plodin vznikají vysoké objemy lignocelulózových zbytků, nejčastěji se jedná o odpadní materiály nebo části rostlin, které nemají další potravinářské využití. Nicméně mohou být potencionálním zdrojem živin pro navazující bioprocesy. Jedním z bioproců, který získává na důležitosti, je kultivace jedlých a léčivých hub na pevných substrátech. S tímto ekologickým přístupem lze mimořádné objemy zemědělských materiálů proměnit v potraviny nebo léčiva (Postemsky et al. 2017). Produkce hub na lignocelulózových odpadech by mohla být jedním z efektivních řešení přeměny těchto odpadů na jedinečný zdroj potravy (Atila 2020). Pro tento druh fermentace jsou využívány zejména dřevokazné houby (Postemsky et al. 2017). Výběr substrátu pro pěstování hub je do značné míry regulován ekonomickými možnostmi a dostupností materiálu. *G. lucidum* je pěstována převážně na pilinách tvrdého dřeva a dřevních štěpkách. Jako alternativa k těmto hlavním materiálům jsou využívány kukuřičné klasy, sloní tráva a další doplňkové substráty, kterými mohou být rýžové nebo pšeničné otruby, kukuřičná mouka, mletá sója nebo řepka, žitná zrna a další (Atila 2020).

Ve studii Atila et al. (2020) byla prokázána pozitivní korelace mezi výtěžkem hub a obsahem celulózy a ligninu v substrátech společně s nízkým obsahem dusíku. Studie zkoumala využití pšeničné slámy, bavlníkové a slunečnicové moučky, sójové slámy a fazolové slámy jako základních substrátů pro pěstování *G. lucidum*, namísto dubových a topolových pilin. Celkové výnosy *G. lucidum* se pohybovaly od 28,6 g/kg do 86,1 g/kg, zatímco odpovídající hodnoty biologické účinnosti se pohybovaly v rozmezí mezi 8,9–24,7 %. Nejvyšší výtěžek a biologickou dostupnost vykazovaly dubové piliny, následované topolovými pilinami. Nejnižší výnos a biologická dostupnost byla zaznamenána u substrátu tvořeného bavlníkovou moučkou (Atila 2020).

Četné studie prokázaly, že složení substrátu má významný vliv na růst mycelia a biologickou účinnost této houby (Lisiecka et al. 2015). V této studii zjistil Lisiecka et al. (2015), že pozitivní vliv na růst mycelia a biologickou účinnost měly substráty doplněné o pšeničné otruby (20%), žitná zrna (25%), mletou sóju (7%) a mletou řepku (10%).

Rýžová sláma, slupky rýže a slunečnicových semen jsou zbytky agroenvironmentálního zájmu, u kterých se předpokládá, že jsou vhodné pro pěstování *G. lucidum*. Tvrzení bylo ověřeno studií, kterou provedl Postemsky et al. (2017), kde bylo v krátkém časovém období dosaženo vysokých výnosů léčivých hub.

Azizi et al. (2012) zkoumal vliv pilin, sladového extraktu a pšeničných otrub na výnos, biologickou dostupnost a růst mycelia *G. lucidum*. Ve studii byly sledovány piliny topolu, habru a buku, které byly smíchány s pšeničnými otrubami (5% a 10%) a sladovým extraktem (2,5% a 5%). Konečné srovnání různých vzorců ukázalo, že nejlepší kombinace pro nejvyšší výnos a biologickou dostupnost byly získány v kombinaci topolových pilin, sladového extraktu (5%) a

pšeničných otrub (10%). Kombinace bukových pilin, sladového extraktu (2,5%) a pšeničných otrub (10%) dosáhla nejvyšší rychlosti růstu mycelia (Azizi et al. 2012).

Rashad et al. (2019) studoval růst *in vitro* mycelia lesklokorky lesklé na šesti agroodpadech, konkrétně byly využity stonky bobu obecného, stonky bavlny, kukuřičná sláma, rýžová sláma, bagasa z cukrové třtiny a pšeničná sláma. Tyto agroodpady byly doplněné pšeničnými otrubami nebo kukuřičným lepkem. K nejlépe hodnoceným použitým substrátům patřily stonky bavlny, následované bagasou z cukrové třtiny a rýžovou slámou. Ukázalo se, že pšeničné otruby jsou nejlepší formou suplementace pro růst mycelia. Kombinace stonků bavlny, rýžové slámy, bagasy z cukrové třtiny a pšeničných otrub prokázala svoji nadřazenost pro růst *in vitro* (Rashad et al. 2019).

3.1.6 Submerzní kultivace *G. lucidum*

Submerzní fermentace hub je rychlá a účinná metoda, která slouží k rychlé produkci mycelia a některých cenných metabolitů (Chen et al. 2019). Submerzní kapalná kultura vegetativních nebo myceliálních forem těchto hub nabízí značný biotechnologický potenciál, pokud jde o dodávání biomasy a bioaktivních metabolitů pro terapeutické účely nebo pro aplikace jako je bioremediace, detoxikace nebo pro obecnou podporu životního prostředí (Fazenda et al. 2008). Zdroje dusíku a uhlíku sehraávají klíčovou roli v modulaci produkce biomasy a jsou hlavními zdroji živin během kultivačního procesu (Chen et al. 2019). Typ a koncentrace sacharidů a dusíku, jejich poměr a vitamíny jsou důležitými faktory pro růst a sporulaci hub (Assefa & Abate 2020). Optimalizace složení média, pH, zásobení kyslíkem a rychlost otáček při třepání baněk je předmětem studií posledních let (Xu et al. 2008).

Submerzní fermentace hub se stala preferovanou metodou pro komerční účely. Z hlediska přenosu tepla, kyslíku a homogenity kultury je výhodnější než kultivace na pevných substrátech (Fazenda et al. 2008). Vunduk et al. (2019) doplňuje, že ve srovnání s produkcí a extrakcí plodnic na pevné fázi je tato metoda ekonomicky dostupnější. Také je spolehlivější, flexibilnější, snáze monitorovatelná a reprodukovatelná. Submerzní fermentace nabízí rychlejší a hygieničtější získání biologicky aktivních látek a tím zajišťuje jejich spolehlivý přísun, který není ovlivněn sezónními výkyvy (Fazenda et al. 2008).

Submerzní kultura *G. lucidum* je považována za nadějnou alternativu pro efektivní produkci ganodermických kyselin, s ohledem na to, že pěstování celých plodnic je časově náročné a trvá zpravidla několik měsíců (Zhou et al. 2014). Další výhodou submerzní kultivace pro získání ganodermických kyselin je vysoká produktivita, nízké náklady a jednodušší zpracování (Xu et al. 2008).

3.2 *Lentinula edodes* (houževnatec jedlý)

Lentinula edodes (houževnatec jedlý) je jednou z nejvíce konzumovaných hub na světě, nejvíce pak ve východní Asii, včetně Číny, Japonska a Korey (Chung et al. 2020).

V Japonsku je *L. edodes* známá pod názvem šiiitake a v Číně jako xianggu (Zhang et al. 2011). Od roku 1877 prochází název této houby značným vývojem. Výchozí vědecké jméno, pod kterým byla šiiitake v platné literatuře zapsána, bylo *Agaricus edodes*. Později byla známá pod názvy *Armillaria edodes*, *Lepiota shiitake* nebo *Cortinellus edodes* (Wasser 2004). Šiiitake

je saprotrofní dřevokazná houba rostoucí na rozkládajícím se suchém dřevě listnatých stromů, ze kterých čerpá nutrienty (Kobayashi et al. 2020). Přirozeně se objevuje na kmenech stromů shii (*Castanopsis cuspidata*) (Royse et al. 2017). Podle současné klasifikace je šiitake součástí kmene Basidiomycota, třídy Basidiomycetes a čeledi *Omphalotaceae* (Gukov & Komin 2020).

Šiitake je vysoce ceněná v orientální a v posledních letech i v západní kuchyni (Morales et al. 2020). Z hlediska objemu produkce zaujímá šiitake v celosvětovém měřítku první místo mezi pěstovanými jedlými houbami (Gaitán-Hernández et al. 2020). Dle Chung et al. (2020) tvoří *Agaricus bisporus* nejvyšší podíl pěstovaných jedlých hub na světovém trhu a až za ni řadí šiitake. Až do poloviny 80. let bylo největším producentem houževnatce jedlého Japonsko. Díky rozvoji nových technik pěstování, které šetřily čas a zvyšovaly efektivitu produkce, se v roce 1990 stala Čína hlavním producentem šiitake (Royse et al. 2017). Jen v roce 2000 vyprodukovala Čína 2 205 208 metrických tun šiitake, což představovalo více než 80 % světové produkce této houby (Chang & Miles 2004).

V Japonsku se *L. edodes* tradičně kultivovala očkovaním na dřevěné špalky. Tento způsob pěstování představuje potencionální zdroj rizika pro životní prostředí. Navíc je tento postup limitován pomalým růstem stromů a nadměrným používáním dubového dřeva. Vzhledem k omezenému množství přírodních zdrojů (vhodného tvrdého dřeva), specifickým podmínkám pěstování a dlouhé době potřebné pro tradiční pěstování šiitake na kmenech se začal široce využívat produkční systém pěstování, který je založený na použití sypkých substrátů (piliny, hobliny) z různých druhů tvrdého dřeva (Gaitán-Hernández et al. 2020). To umožňuje mnohem rychlejší produkci šiitake (Royse et al. 2017). Ačkoliv se v posledních letech jako hlavní metoda kultivace hub šiitake využívají sypké substráty (celkem 75 %), tradiční pěstování šiitake na kmenech stromů zůstává významnou součástí veškeré produkce (Kobayashi et al. 2020).

Pro svou příznivou nutriční hodnotu a léčivé účinky jsou houby šiitake uznávány jako funkční potraviny. Byly prokázány zejména protirakovinné, antivirové, imunomodulační, antioxidační, antibakteriální a antifungální účinky (Gaitán-Hernández et al. 2020).

3.2.1 Morfologie

Klobouk šiitake je 50–200 mm široký. Vyskytuje se v různých odstínech hnědé, šedohnědé nebo červenohnědé barvy s jemnými šupinami bělavé barvy přítisklými na okraji klobouku. Ve středu klobouku se objevuje zpravidla tmavší barva než na jeho okraji. Bílá a pevná dužnina šiitake má charakteristickou intenzivní houbovou vůni. Během zrání houby barva bělavých lupenů postupně žlutne až hnědne. Třeň je 30–50 mm dlouhý a 8–13 mm široký, bělavé až hnědé barvy. Podle vzhledu plodnic jsou rozeznávány dva typy šiitake, „donko“ a „koshin“. Typ „donko“ má silnější dužninu a výrazně rozpraskaný povrch klobouku a je považován za kvalitnější typ šiitake a méně kvalitnější „koshin“ s tenčí dužninou a hladkým povrchem klobouku (Jablonský et al. 2019).

3.2.2 Nutriční hodnota *L. edodes*

Nutriční hodnota šiitake je velmi variabilní. Množství nutrientů a biologicky aktivních látek je podmíněné způsobem pěstování, použitým substrátem a zvoleným kmenem hub (Wasser 2004). V porovnání s ostatními široce kultivovanými houbami, obsahuje šiitake vyšší

podíl sacharidů, tokoferolů a polynenasycených mastných kyselin a naopak obsahuje méně saturevaných mastných kyselin (Chung et al. 2020).

Šiitake je tvořena 58–60 % sacharidů, 20–23 % proteinů, 9–10 % vlákniny. Vláknina je tvořena ve vodě rozpustnými β -glukany a proteiny a ve vodě nerozpustnými hemicelulózami, ligninem nebo chitinem. Obsah lipidů u šiitake je 3–4 % a obsah prachu 4–5 %. Nejvyšší podíl mastných kyselin tvoří linolová kyselina (72,8 %), palmitová kyselina (14,7 %) a olejová kyselina (3,0 %) (Wasser 2004). Šiitake je zdrojem 18 aminokyselin a poskytuje téměř ideální poměr všech esenciálních aminokyselin v lidské výživě (Chen et al. 2021a). Dalšími významnými mikronutrienty jsou vitamíny, zejména provitamin D₂, vitamíny skupiny B (B₁, B₂, B₁₂, B₅) a z minerálních látek je šiitake bohatá na železo, mangan, draslík, vápník, hořčík, kadmium, měď, fosfor a zinek (Wasser 2004).

Hlavní aromatické složky tvoří okten-1-ol-3 a ethyl-n-amyl-keeton. Glutamát sodný, nukleotidy, volné aminokyseliny, peptidy s nižší molekulovou hmotností, cukry a organické kyseliny, které jsou zodpovědné za specifickou chuť šiitake (Wasser 2004). Chen et al. (2021a) dodává, že za jedinečnou chuť šiitake je odpovědná asparagová kyselina a glycin.

3.2.3 Bioaktivní látky *L. edodes*

L. edodes je zdrojem skupiny látek s prokázanými farmakologickými účinky a zahrnuje β -D-glukany, eritradenin, bílkovinu lentin, extrakty LEM, LAP a KS-2 a polysacharid lentinan. Na trhu je k dispozici řada různých doplňků stravy ve formě extraktů nebo prášků z plodnic nebo mycelia, které jsou upřednostňovány pro léčebné použití kvůli vyšší koncentraci farmakologicky aktivních látek (Wasser 2004). Šiitake je připisována nejen nutriční hodnota, ale i její možné terapeutické využití. Uvádí se, že snižuje výskyt hypercholesterolemie, hypertenze nebo křivice a také disponuje antioxidačními, protinádorovými a imunomodulačními vlastnostmi (Liu et al. 2020). Navíc posiluje účinky široce používaných léčivých přípravků k léčbě různých onemocnění, včetně chřipky, vysokého krevního tlaku, obezity, kardiovaskulárních chorob, vyčerpání a slabosti (Wang et al. 2020). Denní konzumace šiitake potvrdila zlepšení imunity u zdravých dospělých jedinců a příjem rozpustných β -glukanů per os u zdravé starší populace vyvolala zvýšení počtu cirkulujících β -buněk (Friedman 2016).

3.2.3.1 Polysacharidy

Glukany jsou hlavní bioaktivní látky, které jsou izolované z hub. Nejčastěji se získávají β -D-glukany, kterým je připisována široká škála příznivých účinků na lidské zdraví. β -D-glukany jsou polysacharidy sestávající z připojených jednotek D-glukózy spojených β -glykosidickými vazbami, které jsou přirozeně součástí droždí, bakterií, řas, obilovin a hub. Pozornost si získaly díky svým biologickým vlastnostem, jež zahrnují imunomodulační, protinádorové, antioxidační a protizánětlivé účinky. Některé studie navíc ukazují, že jsou schopné snižovat krevní cholesterol a hladinu glykémie. Méně často izolované α -D-glukany prokazují rovněž imunomodulační, protinádorové, hypoglykemické a hypolipidemické vlastnosti. Existují různé postupy extrakce β -D-glukanů, které jsou upraveny v závislosti na zdroji a povaze β -D-glukanů. Nejčastěji je však využívána metoda extrakce horkou vodou. Po

dokončení extrakce následují purifikační postupy. Jedním z nejvíce využívaných postupů separace β -D-glukanů z jiných molekul je jejich vysrážení ethanolem (Morales et al. 2019).

3.2.3.2 Lentinan

Lentinan (1 \rightarrow 6),(1 \rightarrow 3)- β -D-glukan je vysoce purifikovaná polysacharidová frakce získaná z plodnic šiiitake (Kaleta et al. 2019). Tento druh polysacharidu má vysokou molekulovou hmotnost (Kimmons et al. 2010). V klinické praxi se používá jako imunomodulátor. Jeho imunostimulační účinky se pohybují od zvýšené odolnosti hostitele k bakteriálním, plísňovým, virovým nebo parazitárním infekcím až po protinádorové účinky (Zhou et al. 2009). Tato látka je schválena pro použití při léčbě nádorového onemocnění jako doplněk konvenční terapie. Důležitou otázkou dnešní doby je zkoumání potencionálního vlivu začlenění selenu do mycelia šiiitake a ovlivnění biologických aktivit polysacharidových frakcí (Kaleta et al. 2019). V poslední době je lentinan celosvětově používán v alternativní medicíně a jako doplněk stravy. Ačkoliv je lentinan známý svými protinádorovými a antivirovými účinky již téměř 40 let, potíže při jeho extrakci, purifikaci nebo konformaci řetězce značně komplikují jeho další vývoj jako případného terapeutika (Zhang et al. 2011).

3.2.3.3 Eritradenin

Eritradenin je sloučenina získávaná z *L. edodes*, která vykazuje hypocholesterolemické účinky u potkanů a lidí. Mechanismus, který tyto účinky způsobuje, není zcela objasněn. Nicméně některé studie uvádějí, že změna metabolismu fosfolipidů může být dána zvláště tehdy, pokud je snížen poměr fosfatidylcholin/fosfatidylethanolamin (PC)/(PE) v játrech. Toto snížení je zprostředkováno eritradeninem jakožto silným inhibitorem enzymu S-adenosylhomocysteinhydrolázy, který inhibuje různé methyltransferázy a současně snížením produkce fosfatidylcholinu. Z provedených studií, které sledovaly vliv obohacení stravy eritradeninem na snížení cholesterolemie z extraktů šiiitake, bylo prokázáno, že u potkanů došlo ke snížení celkového cholesterolu v plazmě o 25 % během jednoho týdne. Následně byla vyvinuta dieta pro krmení potkanů, která zohledňovala pravidelný příjem 5 % eritradeninu ve stravě. Ze studie bylo zjištěno, že došlo nejen ke snížení celkového cholesterolu v plazmě, ale i ke snížení triglyceridů, LDL cholesterolu a i poměru LDL/HDL. V dalším experimentu pak bylo podáváno 90 g šiiitake v čerstvém stavu lidem po dobu jednoho týdne a bylo prokázáno snížení cholesterolu o 12 % (Sánchez-Minutti et al. 2019).

3.2.4 Podmínky růstu podhoubí a tvorby plodnic

3.2.4.1 Koncentrace plynů

Složení atmosféry, zejména koncentrace CO₂ a dalších těkavých látek, jako je ethylen, ovlivňuje růst a vývoj hub, včetně šiiitake. Studie prokázaly, že zvýšení hladiny CO₂ až na 6000 ppm zvýšily růst mycelia. Nicméně na úrovních od 4000 do 6000 ppm je tvorba primordií potlačena. Při koncentraci CO₂ v rozmezí od 2000 do 4000 ppm jsou primordia deformována a houby mají dlouhé třeně a malé klobouky. Úroveň pod 2000 ppm je optimální pro tvorbu plodnic (Przybylowicz & Donoghue 1988).

3.2.4.2 pH

Optimální pH pro růst mycelia a tvorbu plodnic šiiitake je 3,5–4,5. Ideální pH dřevního materiálu je 4,5–5,0 a stává se více acidickým, jakmile začne šiiitake rozkládat dřevo. Optimální hodnota pH pro sypké substráty je 5 (Przybylowicz & Donoghue 1988).

3.2.4.3 Teplota

Teplota ovlivňuje rychlost růstu mycelia houby změnou chemických procesů (Przybylowicz & Donoghue 1988). Optimální teplota během růstu mycelia je 25 °C (Jablonský et al. 2019). Teplota ovlivňuje nejen výnos, ale i tvar houby. Příliš vysoké teploty způsobují dlouhé třeně a příliš tenké klobouky, zatímco houby rostoucí za chladných podmínek mají krátký třeně a silné klobouky (Przybylowicz & Donoghue 1988). Optimální teplota pro fruktifikaci se pohybuje od 13 do 20 °C v závislosti na příslušném kmeni (Jablonský et al. 2019).

3.2.4.4 Vlhkost vzduchu

Během kultivace šiiitake je důležitá evaporace vody. Houby jsou tvořeny z 85–95 % vodou a konstantně ji vypařují do vzduchu. Stejně tak ztrácí obsah vody i substrát. V případě, že jsou ztráty příliš vysoké, snižuje se tím jakost, tak výnos hub. Optimální úroveň vlhkosti substrátu pro růst mycelia šiiitake je v případě kultivace na sypkých substrátech od 55 % do 68 % a při kultivaci na dřevěných špalcích od 35 % do 75 %. Úroveň vlhkosti pod či nad tímto rozsahem inhibuje růst (Przybylowicz & Donoghue 1988). Optimální relativní vlhkost vzduchu pro fruktifikaci je 60–70 %. Vyšší relativní vlhkost vzduchu může vést k riziku rozvoje konkurenčních hub na substrátu (Jablonský et al. 2019).

3.2.4.5 Světlo

Světlo je během vegetativního růstu šiiitake jeden z hlavních předpokladů pro tvorbu plodnic. Délka expozice není přesně definována, nicméně dostatečná délka je uváděna v rozmezí přibližně 20 minut denně (Przybylowicz & Donoghue 1988). Pro růst mycelia je požadována intenzita osvětlení od 180 do 500 luxů (Jablonský et al. 2019).

3.2.5 Kultivace *L. edodes* na sypkých substrátech

Téměř většina šiiitake se pěstuje na syntetických substrátech složených z dubových pilin doplněných bílým prosem, žitem nebo pšeničnými otrubami (Royse & Sanchez 2007). Substráty je nutné sterilizovat a očkovat za kontrolovaných podmínek (Gaitán-Hernández et al. 2020). Dubové piliny jsou nejpoužívanější složkou substrátů pro pěstování šiiitake (Chung et al. 2020). V posledních letech je však obtížnější uspokojit celkovou poptávku po dubových pilinách pro produkci šiiitake. Dubové piliny jsou mimo jiné využívány pro produkci paliva, krmiva, podestýlky, pro úpravu půdy nebo výrobu dřevotřískových desek, tím je daná zvýšená konkurence mezi pěstiteli (Royse & Sanchez 2007). Ostatní složky, jako je kukuřičná a pšeničná sláma, kukuřičné klasy nebo směsi těchto složek, jsou v různých poměrech přidávány

do substrátů. Kromě toho jsou široce využívány i doplňky substrátů na bázi škrobu, které slouží jako potřebné živiny k přípravě optimálních růstových substrátů. Jedná se především o pšeničné a rýžové otruby, proso, žito a kukuřičný prášek (Chung et al. 2020).

3.2.6 Kultivace *L. edodes* dřevěných špalcích

Tradiční schéma kultivace šiiitake na dřevěných špalcích zahrnuje výběr vhodného stromu s optimální vlhkostí 40–45 %, přípravu mycelia, očkování mycelia do připravených otvorů v kmeni, umístění kmenů do odpovídajících podmínek pro správný rozvoj mycelia a sklizeň plodnic (Chung et al. 2020).

Výběr vhodného tvrdého dřeva je jeden z hlavních předpokladů pěstitelského úspěchu (Jablonský et al. 2019). Pro kultivaci šiiitake jsou nejvhodnější listnaté stromy, především z čeledi *Fagaceae* (bukovité), která zahrnuje rod *Quercus* (dub), *Castanea* (kaštanovník), *Castanopsis* (kaštanovec) a další (Przybylowicz & Donoghue 1988). Jablonský et al. (2019) doplňuje, že lze použít i javor nebo buk, tyto dřeviny mají ale slabší kůru, která se snadno poruší, a dřevo tak může rychleji vysychat a být napadeno houbami. V Japonsku se nejčastěji ke kultivaci využívá *Quercus serrata* (dub žlázonosný) nebo *Quercus acutissima* (dub špičatolistý). Doporučená délka špalků je přibližně 100 cm a na šířku by měly kmeny odpovídat 8–20 cm (Kobayashi et al. 2020). Jablonský et al. (2019) doporučuje délku špalků od 80 do 100 cm a jejich průměr od 8 do 12 cm. Je žádoucí, aby byly špalky vybrány a nařezány v pozdním podzimu až zimě (Kobayashi et al. 2020), kdy dřevo obsahuje málo jednoduchých cukrů a nehrozí nebezpečí rozvoje zelených plísní (Jablonský et al. 2019). Přírozenou ochranu kmene tvoří kůra, která působí jako fyzická bariéra a chrání kmen před invazivními druhy hub a zároveň snižuje ztráty vody (Przybylowicz & Donoghue 1988). Mezi poražením stromu a očkovaním houby je vhodné vyčkat 4–8 týdnů. Otvory naplněné sadbou, která byla připravena na pilinách se zpravidla zakrývají vrstvou vosku o teplotě 62 °C. V případě sadby na kolíčcích se rafinuje pouze v suchých oblastech. Prorůstání mycelia dřevem trvá 6–18 měsíců s ohledem na množství použité sadby, podmínkách inkubace a kmenu šiiitake. Optimální teplotní podmínky pro prorůstání mycelia jsou od 22 do 25 °C s vysokým obsahem vody v kmenech (35–55 %). Po dokončení fáze prorůstání dochází k tvorbě plodnic, která je podpořena máčením ve vodě nebo pravidelným kropením kmenů. Plodnost špalků bývá v závislosti na počtu sklizní za rok od 2 do 5 let (Jablonský et al. 2019).

3.3 Selen

Selen je pro lidský organismus nepostradatelný esenciální prvek (Antonyak et al. 2018). Tento prvek může působit na lidský organismus i toxicky. Rozhodujícím faktorem je jeho chemická forma, koncentrace a režim expozice. Organické formy selenu (zejména seleno aminokyseliny) jsou v porovnání s anorganickými formami považovány za bezpečnější a biologicky dostupnější z běžné stravy (Solovyev et al. 2018). Významná biologická funkce selenu je spojována se selenoproteiny (Zhou et al. 2018), které ve své molekule obsahují aminokyselinu selenocystein, často označovanou jako 21. aminokyselinu genetického kódu (Antonyak et al. 2018). Role selenoproteinů nebyla doposud plně objasněna, byla zaznamenána jejich antioxidační aktivita a ochrana buněk před poškozením oxidativním stresem (Gaševcka et

al. 2015b). Selenoproteiny také regulují hladinu hormonů štítné žlázy, jejich aktivaci a inaktivaci (Gač et al. 2021). Selen přispívá ke správné funkci imunitního systému a snížení výskytu kardiovaskulárních onemocnění (Hu et al. 2021b). U lidí bylo popsáno celkem 25 selenoproteinů (Antonyak et al. 2018; Zhou et al. 2018). Kromě snížení oxidačního stresu se selen podílí na ochraně DNA před poškozením a stárnutím buněk (Izydorczyk et al. 2021). Studie prokázaly, že vyšší příjem selenu v potravě vykazuje příznivé účinky proti stárnutí (Shu et al. 2020). Dalším zdravotním benefitem selenu je prevence karcinogenity (Turło et al. 2010). Mimo jiné bylo prokázáno, že selen inhibuje progresi HIV k AIDS (Hu et al. 2021b; Turło et al. 2010). Selen je součástí důležitých derivátů aminokyselin, včetně selenomethioninu, selenocysteinu, methylselenocysteinu a selenocystathionu. Selen ve formě selenocysteinu je přítomen v aktivním centru glutathionperoxidázy. Mimo jiné má pozitivní účinky na plodnost žen i mužů (Gač et al. 2021). Bezpečná denní dávka selenu pro dospělé je až 200 µg/den, zatímco tolerovatelná dávka je až 400 µg/den (Gąsecka et al. 2015b). Nadměrný příjem selenu může vést k alopecii, dermatitidě a zvýšenému riziku vzniku diabetu II. typu (Hu et al. 2020).

3.3.1 Nedostatek selenu

Nedostatek selenu zvyšuje náchylnost k infekcím, revmatoidní artritidě nebo srdečnímu selhání (Izydorczyk et al. 2021). Nízký příjem selenu je asociován s vyšší morbiditou i mortalitou a nepříznivými výsledky v několika studiích u HIV pozitivních jedinců (Osuna-Padilla et al. 2020). Nedostatek selenu je spojován s Keshanskou a Kashin-Beckovou chorobou, autoimunitním onemocněním štítné žlázy, kognitivními poruchami, zhoršenou imunitní funkcí a zvýšeným rizikem vzniku virových onemocnění. Také negativně ovlivňuje reprodukční systém a snižuje imunitní funkci. Studie provedená na čínské populaci ukázala, že v oblastech s nízkým příjmem selenu se významně zvyšuje prevalence onemocnění štítné žlázy (Rayman 2017). V mnoha zemích je příjem selenu nedostatečný, což je dáno nízkou koncentrací selenu v půdě nebo nízkou využitelností půdního selenu zemědělskými plodinami (Antonyak et al. 2018).

3.3.2 Zdroje selenu

Selen je obsažen v potravinách rostlinného původu, kam patří obiloviny, a z nich převážně celozrnné výrobky (Shu et al. 2020). K dalším významným rostlinným zdrojům patří para ořechy, brokolice, cibule, česnek, čočka, mrkev a brambory (Gač et al. 2021). Bohatým zdrojem selenu jsou živočišné produkty, jako je maso, mořské a sladkovodní ryby (Shu et al. 2020). Značný obsah selenu je i v houbách, který je obvykle vyšší než u většiny zeleniny, ale je vysoce variabilní (Solovyev et al. 2018.). Koncentrace selenu v nejvíce konzumovaných jedlých houbách se pohybuje od <1 do 20 µg Se/g sušiny (Gąsecka et al. 2015b).

3.4 Fortifikace substrátu selenem

Houby jsou přirozeným zdrojem selenu, který není pouze mikronutrientem, ale také složkou antioxidantních enzymů a proteinů (Gąsecka et al. 2015b). Mnoho studií ukázalo, že aplikace exogenního selenu může ovlivnit obsah a biologickou dostupnost selenu v jedlých

houbách (Velez et al. 2019; Zhou et al. 2018). Solovyev et al. (2018) potvrzuje, že řada druhů hub akumuluje selen, který je exogenně začleněn do růstového média během kultivace, a navíc jsou houby schopné přeměňovat anorganickou formu selenu na organickou (Chen et al. 2021b; Hu et al. 2019; Niedzielski et al. 2015; Rzymiski et al. 2016; Turło et al. 2010). Bhatia et al. (2013) dodává, že kultivace saprotrofních hub na substrátech bohatých na selen může být účinným prostředkem k produkci selenem obohacených potravin. Podle výsledků studie (Gąsecka et al. 2015b) je selen schopen stimulovat biosyntézu fenolických látek a flavonoidů.

O bioaktivní vlastnosti *G. lucidum* je neustálý zájem. Studie prokázala, že *G. lucidum* může biotransformovat anorganické soli selenu prostřednictvím jejich integrace do proteinů a polysacharidů. Tato zjištění jsou důležitá, pokud se uvažuje, že biologická role selenu je zprostředkována převážně jeho organickou formou, zejména selenoproteiny. Suplementace substrátu zvýšila akumulaci prvků v plodnicích bez ohledu na kultivační model. Kromě toho se ukázalo, že čím vyšší byla koncentrace a počet přidaných prvků v substrátu, tím nižší byl výnos biomasy z plodnic *G. lucidum* (Rzymiski et al. 2016).

Turło et al. (2010) potvrzuje, že mycelium šitake efektivně přijímá selen z kultivačního média v biologicky dostupné formě. Studie také prokázala, že obohacení mycelia šitake selenem zvyšuje antioxidační aktivitu a redukuje aktivitu volných radikálů extraktů mycelia. I velmi nízké koncentrace selenu (0,1–0,5 mg/ml) prokazují zvýšenou aktivitu, zvláště u zředěných extraktů (Turło et al. 2010). Royse & Sanchez (2007) částečně nahradili dubové piliny za mletou pšeničnou slámu a byl sledován vliv na výnos a velikost hub. Výsledky ukázaly, že částečné nahrazení dubových pilin pšeničnou slámou má prokazatelný vliv na vyšší výnos plodnic *L. edodes*. Naopak prokazatelný rozdíl mezi velikostí hub u žádné varianty nebyl pozorován (Royse & Sanchez 2007).

Houba *Calocybe indica* byla kultivována na pšeničné slámě obohacené o různé koncentrace seleničitanu sodného (2,5–40 µg/ml). Obsah selenu v plodnicích se lineárně zvyšoval společně s množstvím seleničitanu sodného, i když výtěžek biomasy inhibovaly jeho koncentrace nad 5 µg/ml (Rathore et al. 2018). Hu et al. (2021a) hodnotil účinky seleničitanu, selenanu a nanočástic selenu na růst a vývoj *Hypsizygyus marmoreus* a analyzoval jejich příjem a biotransformace v této jedlé houbě. Výsledky ukázaly, že výnos plodnic nebyl koncentracemi (0,5–40,0 µg/L) anorganických forem selenu ovlivněn. Bylo zjištěno, že mycelium citlivěji reagovalo na seleničitan než na selenan a nanočástice selenu (Hu et al. 2021a). *Pleurotus ostreatus* cv. *florida* byla pěstována na pšeničné slámě pocházející ze seleniferního pásu Paňdžáb (Indie) a byl sledován potenciál mobilizovat a kumulovat selen z růstového substrátu. Výsledky ukázaly, že koncentrace selenu v biologicky obohacených houbách byla až 800krát vyšší ve srovnání s kontrolními vzorky pěstovanými na pšeničné slámě z oblastí, které nejsou bohaté na selen (Bhatia et al. 2013). Hu et al. (2019) potvrzuje, že houba *Auricularia auricula* je schopna převádět anorganický selen ze substrátu na organické sloučeniny selenu, především selenocystein, selenomethionin.

3.5 Zinek

Zinek je stopový prvek se silnými imunoregulačními a antivirovými vlastnostmi (Jothimani et al. 2020). Jeho potenciál spočívá ve schopnosti tlumit hromadění volných radikálů a chránit tak lidský organismus před oxidativním stresem (Santos et al. 2020). Je nezbytný pro

růst, reprodukční zdraví, imunitu a vývoj nervové soustavy a kognitivních funkcí. Za fyziologických podmínek je zinek nezbytný pro buněčný růst a zrání imunitních buněk, zejména při vývoji a aktivaci T-lymfocytů (Jothimani et al. 2020). Skutečnost, že více než 300 enzymů je závislých na přítomnosti tohoto prvku, ho činí nepostradatelným pro řadu buněčných funkcí a orgánových systémů (Rosenkranz et al. 2011). Jako signální molekula, která se účastní biologických procesů metaloenzymů, je zinek hlavním regulátorem genové exprese a biologické homeostázy (Santos et al. 2020). Zinek se účastní mnoha biochemických reakcí. Podílí se na metabolismu nukleových kyselin a biosyntéze RNA, DNA a proteinů. Navíc podporuje ukládání a sekreci inzulínu v pankreatu a vykazuje antioxidační vlastnosti (Muszyńska et al. 2016). Zinek je důležitý při hojení ran a obnově tkání (Prasad 2020). Množství zinku v lidském těle se pohybuje v rozmezí 2–3 g, ale jeho obsah se liší mezi jednotlivými tkáněmi. Doporučený denní příjem zinku je 7–12 mg, nicméně tyto hodnoty jsou odlišné napříč celým světem (Rosenkranz et al. 2011). Dle Jothimani et al. (2020) je doporučený denní příjem zinku 3–16 mg. Dávky převyšující 40 mg elementárního zinku denně jsou prospěšné při léčbě mužského hypogonadismu, protože zinek zlepšuje produkci a působení testosteronu a spermií (Santos et al. 2020).

3.5.1 Nedostatek zinku

Mírný nedostatek zinku se projevuje zpomalením růstu a narušením obranyschopnosti organismu (Prasad 2020). Dlouhotrvající nedostatek zinku způsobuje dysfunkci imunitního systému, sterilitu u mužů, neurosenzorické poruchy a snížení tělesné hmotnosti (Jothimani et al. 2020). U těžkého nedostatku zinku se klinické příznaky projevují zpomalením růstu, opožděnou sexuální a kostní zralostí, kožními lézemi, průjmy, alopecií a sníženou chutí k jídlu (Prasad 2020). Thrame et al. (2018) k výše zmíněným projevům nedostatku zinku dodává oční abnormality. Nedostatek zinku je spojován s chronickým zánětlivým stavem, progresí onemocnění a úmrtností u jedinců s HIV. Rovněž vede k metabolickým odchylkám, ke kterým patří hyperglykémie a vyšší koncentrace C-reaktivního proteinu (CRP) (Osuna-Padilla et al. 2020). Studie také prokázaly zvýšenou tendenci k virovým infekcím u pacientů s nedostatkem zinku (Jothimani et al. 2020).

3.5.2 Zdroje zinku

Živočišné maso je nejdůležitější biologicky dostupný zdroj zinku, který se objevuje především v červeném mase. Obsah zinku je široce variabilní. Maso, ořechy, luštěniny a celozrnné potraviny obsahují více než 1 mg zinku na 100 g jedlé porce (Rosenkranz et al. 2011). Dalšími významnými zdroji zinku jsou droby, ryby, mořské plody a sýry (Trame et al. 2018).

3.6 Fortifikace substrátu zinkem

Jedlé houby jsou významným zdrojem bioelementů nezbytných pro život. Plodnice hub a jejich spory vykazují vynikající schopnost akumulovat makroelementy i mikroelementy. Nejdůležitější mechanismus pro samotnou akumulaci je založený na vazbě těchto prvků na metalothionein, který vykazuje afinitu zejména ke kovům. Absorpce těchto prvků závisí na pH půdy, individuálním vývoji hub a biologické dostupnosti kovů (Muszyńska et al. 2016). Ve své

studii potvrzuje Muszyńska et al. (2016), že jedlé houby jsou příznivým zdrojem zinku, a že tepelné procesy využívané při jejich zpracování mohou způsobit změny v uvolňování zinku, které mohou částečně souviset s druhem testovaných hub.

Jedlé houby mají silnou schopnost absorbovat a transformovat anorganický zinek z prostředí na bioorganický zinek v buňkách. Bioorganický zinek v buňkách jedlých hub má vysokou biologickou dostupnost a nízké toxické vedlejší účinky. Mechanismus biotransformace zinku jedlými houbami je doposud neobjasněn (Zheng et al. 2020). Houba *Thelephora ganbajun* byla sledována ve studii Zheng et al. (2020) a ukázalo se, že měla silnou schopnost absorbovat zinek, který může být akumulován ve formě zinkem obohacených polysacharidů.

Také Zięba et al. (2020) sledoval vliv biofortifikace selenem a zinkem houby *Pleurotus eryngii* na výnos, obsah bioprvků a chemických sloučenin. Pro zvýšení obsahu selenu a zinku v plodnicích *P. eryngii* a myceliích byly substráty doplněny roztoky seleničitanu sodného v koncentracích 50 mg/L, síranem zinečnatým a hydro-aspartátem zinečnatým v koncentracích 87,2 mg/L a 100,0 mg/L. *P. eryngii* prokázala schopnost akumulovat zinek a selen z kultivačního média. Ukázalo se, že stupeň akumulace zinku je různý v závislosti na druhu použité soli (Zięba et al. 2020).

Studie zabývající se vlivem obohacení substrátu různými koncentracemi zinku na jeho bioakumulaci a výtěžek biomasy mycelia a plodnic kultivovaných v tekutém médiu ukázala, že optimální výnos mycelia a plodnic byla získána při koncentraci zinku 100 mg/L. Studie naznačila, že schopnost bioakumulace zinku v myceliu je mnohem větší než v plodnicích (Poursaeid et al. 2015).

3.7 Železo

Železo je nepostradatelný mikronutrient a je součástí téměř všech forem života. Je jedním z nejhojněji se vyskytujících prvků v zemské kůře (Santosh & Gordeuk 2020). Železo se řadí mezi přechodné prvky a to mu umožňuje vyskytovat se v různých mocenstvích. Primárně se vyskytuje ve formě železnatých (Fe^{2+}) a železitých (Fe^{3+}) iontů (Gerner et al. 2020). Účastní se stěžejních fyziologických procesů, včetně energetického metabolismu, syntézy DNA, transportu kyslíku a buněčného dýchání (Gerner et al. 2020). Grubić-Kezele (2018) dodává, že železo je funkčním kofaktorem více než 200 metaloenzymů. Železo je obsaženo v hemu, které je součástí hemoglobinu a myoglobinu a nachází se proto jen v živočišných tkáních. Je součástí cytochromů a enzymů obsahujících železo, které se podílí na přenosu elektronů (Grubić-Kezele 2018). Nadbytek železa v organismu je spojován s oxidačním stresem a vznikem extrémně reaktivního hydroxylového radikálu, který vážně poškozuje membrány, proteiny a DNA (Puntarulo 2005). V těle dospělého člověka jsou přibližně 4 g železa (Santosh & Gordeuk 2020). Puntarulo (2005) uvádí, že u dospělého člověka je obsah železa 3–4 g. Více než 60 % celkového obsahu železa v těle se váže na hemoglobin červených krvinek. Feritin a hemosiderin jsou zásobní formy železa. Minoritní podíl železa v lidském těle cirkuluje v krvi, kde je vázáno na transferin (Santosh & Gordeuk 2020). V organismu je železo ukládáno především v játrech, slezině a kostní dřeni, kde je transportováno a skladováno ve specifických proteinech (transferin, laktoferin, feritin a hemové proteiny) (Puntarulo 2005). Železo se primárně vstřebává ve své dvojmocné formě v duodenu (dvanáctníku) a proximálním jejunu (lačnicku).

Zatímco trojmocné železo má mnohem nižší biologickou dostupnost (přibližně jen 10 %), biologická dostupnost hemového železa je 15–35 % (Gerner et al. 2020). Ahmad et. al (2021) uvádí, že biologická dostupnost trojmocného železa je 2–15 %.

Pro vstřebávání železa je zapotřebí dostatečná acidita žaludeční šťávy. Absorpci železa také pozitivně podporuje přítomnost vitamínu C, citronové, jablečné, vinné a mléčné kyseliny. Všechny tyto faktory přispívají k udržení železa ve dvojmocné formě a tím umožňují jeho vstřebávání z gastrointestinálního traktu a zapojení do metabolických dějů v organismu (Jandová 2019). Naopak absorpci železa negativně ovlivňují fytyáty z rostlinných zdrojů potravin. Stejně tak polyfenoly přítomné v čaji, kávě, víně, luštěninách, obilovinách, ovoci a zelenině mohou inhibovat absorpci železa (Ahmad et al. 2021).

3.7.1 Nedostatek železa

Nedostatek železa je celosvětovým zdravotním problémem, zvláště pak v rozvojových zemích, kde ohrožuje více než dvě miliardy lidí. Nejrizikovější skupinou v těchto zemích jsou děti a ženy v reprodukčním věku (Kalač 2019). Jedním z mnoha důsledků nedostatku železa je mikrocytární anémie, která je vyvolána sníženou tvorbou erytrocytů nebo zvýšenými ztrátami červených krvinek způsobených jejich destrukcí nebo krvácením (Hayter & Thomas 2021). K běžným projevům nedostatku železa patří únava, snížená koncentrace, bledost nebo bolest hlavy. K dalším příznakům se řadí závratě, alopecie nebo suchá pokožka (Pasricha et al. 2021). Nedostatek železa souvisí se sníženou imunitou a poruchou kognitivních funkcí (Grubić-Kezele 2018). Deficit železa je spojován s nízkou motorickou i psychickou výkonností, poruchami termoregulace a termogeneze a snížením odolnosti vůči infekcím (Jandová 2019).

3.7.2 Zdroje železa

Na základě klasifikace dietních zdrojů železa se v lidské stravě nacházejí dva různé druhy železa, a to nehemové železo (Fe^{3+}) a hemové železo (Fe^{2+}). Nehemové železo je přítomno převážně v sušených fazolích, obilovinách, luštěninách, pšeničných klíčcích, ústřicích, vaječných žloutcích a několika druzích ovoce a zeleniny a je přirozeně méně absorbováno lidským tělem, protože jeho biologická dostupnost je nižší než v případě hemového železa. Hemové železo je forma železa, která pochází hlavně z masa a masných výrobků. Hlavním zdrojem hemového železa je myoglobin a hemoglobin, které pocházejí hlavně z kuřecích jater, hovězího masa, ryb, vajec a vnitřností a je velmi dobře absorbováno lidským tělem (Ahmad et al. 2021).

Železo je jedním z nejvíce rozšířených prvků v houbách. V divoce rostoucích houbách je rozpětí obsahu železa velmi variabilní a rozpětí je od 50 do 1000 mg Fe/kg sušiny. Běžné hodnoty u kultivovaných druhů hub jsou nižší, zpravidla v rozmezí 50–300 mg Fe/kg sušiny. Extrémní hodnoty 24 600, 6 760, 4 660 a 4 200 mg Fe/kg byly pozorovány u *Lycoperdon perlatum*, třeni *Xerocomus spadiceus*, klobouku *Boletus edulis* a v klobouku *Amanita caesarea* (Kalač 2019).

4 Metodika

4.1 Materiály

4.1.1 Sadba a kmeny

4.1.1.1 Sadba

- pro houby lesklokorek a šiitake byla použita sadba narostlá na obilkách pšenice

4.1.1.2 Kmeny

- *Ganoderma adpersum* (lesklokorka tmavá) ze sbírky katedry zahradnictví FAPPZ ČZU
- *Ganoderma lingzhi* – druh lesklokorky pocházející z Číny charakterizovaný zvýšeným obsahem léčivých látek
- *Ganoderma lucidum* – kmen pocházející z Thajska
- *Lentinula edodes* (houževnatec jedlý) ze sbírky katedry zahradnictví FAPPZ ČZU

4.1.2 Substrát

- Piliny listnatých stromů – základní surovina pro přípravu substrátů bohatá na celulózu a hemicelulózu
- Pšeničné otruby (20%) – podpora růstu hub, obsahují především části slupek
- *Miscanthus* – energetická plodina používaná pro vysoký obsah ligninu
- Kukuřičná vřetena – lignocelulózní materiál vhodný pro pěstování hub

4.1.3 Chemikálie

- Seleničitan sodný (Na_2SeO_3)
- Selenan sodný (Na_2SeO_4)
- Síran zinečnatý (ZnSO_4)

4.1.4 Kultivační nádoby

Během zakládání pokusů byly použity různé kultivační nádoby. Pro samotnou sadbu byly využity skleněné lahve od mléka. Pro kontrolu prorůstání mycelia byly použity plastové kbelíky s otvorem ve víku. Otvor ve víku byl utěsněn molitanovou zátkou pro přístup vzduchu. Substrát byl plněn do speciálních PP sáčků belgické firmy SACO2.

4.1.5 Propařovací komora

Propařovací komora je umístěna ve výzkumné stanici ČZU v Červeném Újezdě. Její součástí jsou izolační polyuretanové panely o síle 70 mm, jednotlivé panely jsou spojené L profily. Vnitřní prostor komory je tvořen nerezovým plechem. Konstrukce uvnitř komory umožňuje umístění až 7 podlážek, které jsou zhotovené ze sítě pletiv. Díky tomuto uspořádání

je umožněn prostup páry mezi jednotlivými patry. K uzavírání komory slouží parotěsný panel s panty. Pomocí vyvíječe je do komory přiváděna pára, která je automaticky regulována teplotním čidlem. Pohyb a cirkulaci vzduchu uvnitř komory reguluje ventilátor, který je umístěn shora komory. Teplotu zprostředkovává zdroj s výkonem 1200 W. Propařovací komora pojme přibližně 200 kg substrátu. K dosažení pasterizace substrátů byla v propařovací komoře nastavena teplota na 90 °C po dobu 24 hodin.

4.1.6 Oscilační mlýn MM 301

Pro mletí plodnic lesklokorky byl využit oscilační mlýn MM 301, který poskytla Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Díky tomuto přístroji mohly být současně namlety dva vzorky o objemu 0,2–20 ml v časovém intervalu 90 sekund. Mlecí nádoby vytvářely radikální oscilace v horizontální poloze. Uvnitř nádobek byly umístěny společně se vzorky mlecí kuličky, které způsobovaly náraz s vysokou energií na vzorek materiálu v kulatých koncích mlecí nádoby. Intenzita vibrací byla nastavena na 30 Hz.

4.2 Metody

4.2.1 Příprava sadby

Sadba byla připravena z pšeničných zrn. Zprvu byla pšeničná zrna uvařena do měkka ve varném hrnci tak, aby nepopraskala. V dalším kroku byla uvařená zrna promíchána se sádrou kvůli úpravě pH a oddělení jednotlivých zrn. Hotová sadba se plnila do skleněných lahví, které byly uzavřeny vatovou zátkou. Připravený materiál byl sterilován v autoklávu po dobu 4 hodin při teplotě 121 °C. Zrno bylo po sterilizaci očkováno bločky agarů s kulturou zkoumaných hub ve flowboxu. Vše probíhalo za sterilních podmínek. Nástroje byly sterilizované lihem a opalovány nad kahanem. Naočkované zrno bylo nutné protřepávat každý týden.

4.2.2 Příprava substrátu

Příprava substrátu probíhala ve výzkumné stanici ČZU v Červeném Újezdě, kde byly substráty očkovány a uskladněny do doby, než prorostly myceliem. Každý substrát byl připravován dle přesných instrukcí dané metodiky jednotlivých pokusů. Hotové substráty byly plněny do předem označených SACO2 sáčků a kbelíků. Zatavené sáčky a uzavřené kbelíky se substrátem byly přemístěny do propařovací komory, kde proběhla jejich pasterizace při teplotě 90 °C po dobu 24 hodin.

4.2.3 Očkování

Očkování substrátů se odehrávalo v horizontu 2–5 dnů po jejich propaření ve výzkumné stanici ČZU v Červeném Újezdě. Prorostlá sadba byla za sterilních podmínek naočkovaná myceliem kultury šiitake nebo lesklokorky. Očkování probíhalo ve flowboxu. V dalším kroku byl substrát se sadbou promíchán tak, aby se sadba dostala do všech vrstev substrátu. Takto promíchaný substrát se sadbou byl uložen v Červeném Újezdě. Kbelíky s naočkovanou sadbou se neprotřepávaly, protože sloužily jako růstové zkoušky.

4.2.4 Prorůstání mycelia a jeho měření

Prorůstání mycelia, stejně tak jako příprava substrátů a očkování, bylo uskutečněno ve výzkumné stanici ČZU v Červeném Újezdě. Přírůstky mycelia byly hodnoceny na kbelících po 10 dnech od naočkování danou kulturou. Měření byla zaznamenána na 4 vertikálních osách vyznačených na obalech kbelíků. Druhé měření se opakovalo po uplynutí dalších 10 dnů. Samotné měření probíhalo v laboratořích ČZU.

4.2.5 Frukifikace

Bloky a kbelíky prorostlé myceliem byly převezeny do pěstírny ČZU, kde byly v případě lesklokorky odkryty vrchní části plastových sáčků a víka kbelíků. Substráty naočkované houbou šiitake byly odkryty kompletně. Během prorůstání substrátů byla udržována teplota 24 °C. V pěstírně byla udržována vysoká vzdušná vlhkost (80–95 % r. v.) a teploty 16–21 °C podle druhu pěstovaných hub. Ve skleníku teploty kolísaly v rozmezí 25–30 °C.

4.2.6 Sklizeň

Plodnice byly sklizeny průběžně v několika vlnách. Po sklizni byly houby sušeny v laboratoři ČZU při teplotě 40 °C.

4.2.7 Mletí

Plodnice lesklokorek byly nejprve nastrouhány na kuchyňském struhadle. Samotné mletí lesklokorky bylo realizováno ve spolupráci s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze, kde byl pro mletí využit oscilační mlýn MM 301. K mletí šiitake byl využit kuchyňský mlýnek na kávu.

4.2.8 Mineralizace vzorku

Mineralizace vzorků proběhla v čistých víálkách z křemenného skla v mikrovlnném rozkladném systému (Discover, SP-D, CEM Corp., USA). Do každé z viálek bylo naváženo 0,2 g homogenizovaného vzorku (s přesností na 0,1 mg). Dále byly pipetou přidány 3 ml HNO₃ (Analpure, Analytika, Česká republika) a 3 ml H₂O₂ (p.a., ROTH, Německo). Byl použit následující protokol: 10 min ohřev na teplotu 180 °C, 10 min při teplotě 180 °C, 10 min schlazení na teplotu 50 °C. Mineralizát byl kvantitativně převeden do 50ml plastové zkumavky a doplněn na finální objem 40 ml ultračistou vodou (Milli-Q systém, Millipore, SAS, Francie). V takto zředěných mineralizátech byla stanovena koncentrace Se, Fe a Zn při měření izotopů ⁷⁸Se, ⁵⁶Fe, ⁶⁶Zn technikou ICP-MS (Agilent 8900, Agilent Technologies Inc., USA). Jako interní standardy byly použity ⁴⁵Sc, ⁷²Ge, ⁷⁴Ge, ¹⁰³Rh. K zajištění kvality měření a správnosti výsledků metody pro stanovení obsahu prvků ve vzorcích hub byly pravidelně analyzovány také slepé vzorky a certifikovaný referenční materiál (BCR-185R, bovine liver). Stanovení selenu, zinku a železa provedl Ing. Praus, Ph.D. v analytické laboratoři FAPPZ ČZU, Praha Suchdol.

4.2.9 Vyhodnocení dat

Pro zhodnocení výsledků koncentrace stopových v prvků v plodnicích hub byl použit MS Excel a program Statistica 13 od společnosti TIBCO.

4.2.10 Pokus č. 1

První pokus byl založený 13. 7. 2020 ve výzkumné stanici ČZU v Červeném Újezdě. Pokus sledoval složení a obohacení substrátu různými koncentracemi seleničitanu sodného (Na_2SeO_3) na jeho příjem myceliem *G. adspersum*, *G. lingzhi* a *L. edodes* a koncentraci selenu, zinku a železa v plodnicích

4.2.10.1 Materiál

- Seleničitan sodný (koncentrace 2 mg Se/kg, 6 mg Se/kg, 18 mg Se/kg)
- Piliny listnatých stromů
- Pšeničné otruby (20%)
- Sadba různých druhů lesklokorek (*Ganoderma adspersum*, *Ganoderma lingzhi*)
- Sadba *L. edodes*

4.2.10.2 Příprava substrátu

K přípravě substrátu byly použity 4,0 kg pilin listnatých stromů obohacených 1,0 kg pšeničných otrub (20%). K této směsi bylo přidáno 7,0 l horké vody a substrát se důkladně promíchal. Tímto způsobem vznikla kontrolní varianta.

Varianta s nejnižší koncentrací seleničitanu sodného byla připravena obdobně pouze s jedinou výjimkou, a to že bylo přidáno 120 ml seleničitanu sodného (koncentrace 2 mg Se/kg). Zbylé varianty vznikly stejným algoritmem, přičemž už se jen měnila koncentrace přidávaného seleničitanu sodného (koncentrace 6 mg Se/kg a 18 mg Se/kg).

Každá varianta byla plněna do SACO2 sáčků o hmotnosti 2,0 kg. Pro každou variantu bylo připraveno 6 bloků substrátů. Celkem bylo připraveno 24 bloků. Od každé varianty se navíc odebraly růstové zkoušky. SACO2 sáčky byly po naplnění zataveny a přemístěny do propařovací komory, kde byly pasterizovány při teplotě 90 °C po dobu 24 hodin.

15. 7. 2020 byly substráty naočkovány lesklokorkami (*G. adspersum*, *G. lingzhi*) a šiitake (*L. edodes*). Tabulka č. 1 odkazuje na složení substrátu.

Tabulka č. 1 – složení substrátu (*G. adsperum*, *G. lingzhi*, *L. edodes*)

Varianty	Počet bloků (ks)	Hmotnost bloků (kg)	Potřeba vody (l)	Množství Na ₂ SeO ₃ (ml)	(20%) pšeničné otruby (kg)	Piliny listnatých stromů (kg)
K	6	2	7	×	1	4
2 mg/kg	6	2	7	120	1	4
6 mg/kg	6	2	7	120	1	4
18 mg/kg	6	2	7	120	1	4
Celkem	24	8	28	360	4	16

4.2.11 Pokus č. 2

Druhý pokus byl zakládán 28. 7. 2020 ve výzkumné stanici ČZU v Červeném Újezdě. Byly připraveny varianty substrátů s přidavkem seleničitanu sodného i síranu zinečnatého.

4.2.11.1 Materiál

- Seleničitan sodný (koncentrace 2 mg Se/kg, 6 mg Se/kg, 18 mg Se/kg)
- Síran zinečnatý (koncentrace 10 mg Zn/kg, 20 mg Zn/kg, 40 mg Zn/kg)
- Piliny listnatých stromů
- Pšeničné otruby (20%)
- Kukuřičná vřetena
- Sadba *G. lucidum*

4.2.11.2 Příprava substrátu Na₂SeO₃

Na přípravu kontrolní varianty substrátu byl použit 1,0 kg kukuřičných vřeten, 0,25 kg pšeničných otrub (20%) a 1,75 l horké vody.

Varianta s nejnižší koncentrací seleničitanu sodného (2 mg Se/kg) vznikla smícháním 2 kg kukuřičných vřeten, 0,55 kg pšeničných otrub (20%) a 3,5 l horké vody. Další varianty s koncentracemi 6 mg Se/kg a 18 mg Se/kg byly připraveny stejným algoritmem jako předešlá varianta.

Připravené substráty byly plněny do SACO2 sáčků o hmotnosti 2,0 kg. Kontrolní varianta byla tvořena pouze jedním blokem, ostatní varianty obohacené seleničitanem sodným byly složeny ze tří bloků. U každé varianty byly odebrány růstové zkoušky. Následovalo zatavení sáčků se substráty a jejich umístění do propařovací komory, kde probíhala pasterizace při 90 °C po dobu 24 hodin. Tabulka č. 2 odkazuje na složení substrátu.

Tabulka č. 2 – složení substrátu (Na₂SeO₃)

Varianty	Počet bloků (ks)	Hmotnost bloků (kg)	Potřeba vody (l)	Množství Na ₂ SeO ₃ (ml)	(20%) pšeničné otruby (kg)	Kukuřičná vřetena (kg)
K	1	2,5	1,75	×	0,25	1
2 mg/kg	3	2	3,5	120	0,55	2
6 mg/kg	3	2	3,5	120	0,55	2
18 mg/kg	3	2	3,5	120	0,55	2
Celkem	10	8,5	12,25	360	1,9	7

4.2.11.3 Příprava substrátu ZnSO₄

Kontrolní varianta se skládala z 2,0 kg pilin listnatých stromů, 0,55 kg pšeničných otrub (20%) a 3,5 l horké vody. Substráty s přísadkou 120 ml síranu zinečnatého o koncentracích 10 mg Zn/kg, 20 mg Zn/kg a 40 mg Zn/kg byly připraveny ze stejného množství komponentů a totožným způsobem jako kontrolní varianta.

Všechny substráty byly naplněny do tří SACO2 sáčků od každé varianty o hmotnosti 2,0 kg. U každé varianty byly odebrány růstové zkoušky. Po zatavení všech sáčků následovala pasterizace substrátů v propařovací komoře při teplotě 90 °C po dobu 24 hodin.

Očkování obou substrátů probíhalo 31. 7. 2020 a byl použit kmen *Ganoderma lucidum*. Tabulka č. 3 odkazuje na složení substrátu.

Tabulka č. 3 – složení substrátu (ZnSO₄)

Varianty	Počet bloků (ks)	Hmotnost bloků (kg)	Potřeba vody (l)	Množství ZnSO ₄ (ml)	(20%) pšeničné otruby (kg)	Piliny listnatých stromů (kg)
K	3	2	3,5	×	0,55	2
10 mg/kg	3	2	3,5	120	0,55	2
20 mg/kg	3	2	3,5	120	0,55	2
40 mg/kg	3	2	3,5	120	0,55	2
Celkem	12	8	14	360	2,20	8

4.2.12 Pokus č. 3

Další pokusy byly založeny 11. 8. 2020 ve výzkumné stanici ČZU v Červeném Újezdě. Byly připraveny dva totožné substráty obohacené různými koncentracemi solí zinku. První ze

substrátů byl použit pro naočkování kulturou *Ganoderma lucidum* a druhý pro kulturu *Ganoderma lingzhi*.

4.2.12.1 Materiál

- Síran zinečnatý (koncentrace 10 mg Zn/kg, 20 mg Zn/kg, 40 mg Zn/kg)
- Piliny listnatých stromů
- Pšeničné otruby (20%)
- Sadba *G. lucidum*, *G. lingzhi*

4.2.12.2 Příprava substrátu

Základní dávka substrátu se skládala z 3,0 kg pilin listnatých stromů, 0,64 kg pšeničných otrub (20%) a 5 l vody. Protože bylo složení substrátu totožné pro oba druhy lesklokorky, připravila se rovnou dvojitá dávka substrátu.

Kontrolní varianta substrátu byla tedy připravena z 6,0 kg pilin listnatých stromů, 1,28 kg pšeničných otrub (20%) a 10,0 l horké vody. Varianta s koncentrací síranu zinečnatého 10 mg Zn/kg byla připravena stejným způsobem jako kontrolní, k substrátu bylo navíc přidáno 170 ml této soli. U dalších variant se postup opakoval, přičemž se obměňovala pouze koncentrace síranu zinečnatého. U střední varianty byl přidán síran zinečnatý o koncentraci 20 mg Zn/kg a nejvyšší koncentrace síranu zinečnatého 40 mg Zn/kg byla použita pro variantu poslední.

Hotové substráty byly plněny do SACO2 sáčků, jejichž hmotnost byla 2,3 kg. U každé varianty byly odebrány růstové zkoušky. Naplněné sáčky byly následně zataveny a přemístěny do propařovací komory, kde probíhala pasterizace při 90 °C po dobu 24 hodin.

K očkování, které proběhlo 13. 8. 2020, byl použity kultury *Ganoderma lucidum* a *Ganoderma lingzhi*. Tabulka č. 4 odkazuje na složení substrátů.

Tabulka č. 4 – složení substrátů (*G. lucidum*, *G. lingzhi* – ZnSO₄)

Varianty	Počet bloků (ks)	Hmotnost bloků (kg)	Potřeba vody (l)	Množství ZnSO ₄ (ml)	(20%) pšeničné otruby (kg)	Piliny listnatých stromů (kg)
K	3(6)	2,3(4,6)	5(10)	×	0,64(1,28)	3(6)
10 mg/kg	3(6)	2,3(4,6)	5(10)	170(340)	0,64(1,28)	3(6)
20 mg/kg	3(6)	2,3(4,6)	5(10)	170(340)	0,64(1,28)	3(6)
40 mg/kg	3(6)	2,3(4,6)	5(10)	170(340)	0,64(1,28)	3(6)
Celkem	12(24)	9,2(18,4)	20(40)	510(1020)	2,56(5,12)	12(24)

4.2.13 Pokus č. 4

V laboratořích ČZU byl 16. 9. 2020 založen pokus submerzní kultivace *G. lucidum* s aplikací seleničitanu (Na_2SeO_3) a selenanu sodného (Na_2SeO_4), který hodnotil přírůstek biomasy. Pokus byl ukončen 6. 10. 2020.

4.2.13.1 Materiál

- 2% sladinový extrakt
- Demineralizovaná voda
- Seleničitan sodný (koncentrace 0,03 mg Se/l, 0,15 mg Se/l, 0,75 mg Se/l, 3,75 mg Se/l, 18,75 mg Se/l)
- Selenan sodný (koncentrace 0,03 mg Se/l, 0,15 mg Se/l, 0,75 mg Se/l, 3,75 mg Se/l, 18,75 mg Se/l)
- Sadba *G. lucidum*

4.2.13.2 Příprava submerzní lesklokorky

V demineralizované vodě byl rozmíchán 2% sladinový extrakt, toto kultivační médium se naplnilo do Erlenmeyerových baněk. Koncentrace selenanu a seleničitanu sodného byly postupně přidávány od nejnižší po nejvyšší koncentraci (0,03 mg Se/l, 0,15 mg Se/l, 0,75 mg Se/l, 3,75 mg Se/l, 18,75 mg Se/l). Od každé koncentrace byly připraveny tři varianty, dohromady 30 vzorků. Celkový objem v jedné baňce byl 70 ml. Erlenmeyerovy baňky byly vysterilizovány v autoklávu při 121 °C po dobu 20 minut. Po vychladnutí se médium inokulovalo myceliem houby *Ganoderma lucidum*. Po inokulaci se Erlenmeyerovy baňky umístily do třepačky a třepalo se při 180 rpm (rychlost otáček/minutu) po dobu 20 dnů. Po 20 dnech byly Erlenmeyerovy baňky vyjmuty z třepačky a z narostlého mycelia se pomocí vývěvy odsálo přebytečné médium, což podpořilo i sušení plodnic na filtračním papíru. Následně se získaná biomasa zmrazila a po provedené lyofilizaci byla předána k analýze.

4.2.14 Pokus č. 5

Ve výzkumné stanici ČZU byl 2. 10. 2020 založen další pokus, který posuzoval složení a obohacení substrátu třemi různými koncentracemi seleničitanu sodného (Na_2SeO_3) a jeho příjem myceliem *L. edodes* a výnos plodnic.

4.2.14.1 Materiál

- Seleničitan sodný (koncentrace 2 mg Se/kg, 6mg Se/kg, 18mg Se/kg)
- Piliny listnatých stromů
- Pšeničné otruby (20%)
- Sadba *L. edodes*

4.2.14.2 Příprava substrátu

K přípravě substrátu byly zapotřebí 3,0 kg listnatých pilin, 0,64 kg pšeničných otrub (20%) a 6,0 l horké vody. Navážený materiál byl důkladně promíchán a plněn do sáčků. Tímto postupem byla získána kontrolní varianta bez přídavku seleničitanu sodného. Od každé varianty byly připraveny 4 bloky substrátu po dvou kilogramech.

Další série variant byly připraveny totožným způsobem, na rozdíl od té kontrolní byly postupně do substrátů přidávány různé koncentrace seleničitanu sodného v množství 160 ml na každou variantu. Nejnižší koncentrace seleničitanu sodného činila 2 mg Se/kg, 6 mg Se/kg střední koncentrace a nejvyšší koncentrace měla hodnotu 18 mg Se/kg. U každé varianty byly odebrány vzorky substrátu na provedení růstové zkoušky. Následně byly všechny bloky zataveny a pasterizovány při teplotě 90 °C v propařovací komoře po dobu 24 hodin.

Takto připravený substrát byl připraven k očkování, které proběhlo 7. 10. 2020. Tabulka č. 5 odkazuje na složení substrátu.

Tabulka č. 5 – složení substrátu (*L. edodes*)

Varianty	Počet bloků (ks)	Hmotnost bloků (kg)	Potřeba vody (l)	Množství Na ₂ SeO ₃ (ml)	(20%) pšeničné otruby (kg)	Piliny listnatých stromů (kg)
K	4	2	6	×	0,64	3
2 mg/kg	4	2	6	160	0,64	3
6 mg/kg	4	2	6	160	0,64	3
18 mg/kg	4	2	6	160	0,64	3
Celkem	16	8	24	480	2,56	12

4.2.15 Pokus č. 6

Poslední pokus sledoval složení a obohacení různých substrátů střední koncentrací seleničitanu sodného (Na₂SeO₃) a jeho příjem myceliem *L. edodes* a výnos plodnic. Pokus byl založený 02. 10. 2020 ve výzkumné stanici ČZU v Červeném Újezdě.

4.2.15.1 Materiál

- Seleničitan sodný (koncentrace 6 mg Se/kg)
- Piliny listnatých stromů
- *Miscanthus*
- Kukuřičná vřetena
- Pšeničné otruby (20%)
- Sadba *L. edodes*

4.2.15.2 Příprava substrátů – piliny listnatých stromů, *Miscanthus*, kukuřičná vřetena

Substrát byl připraven smícháním 0,43 kg pšeničných otrub (20%) a 2,0 kg pilin listnatých stromů. K navážené směsi bylo přidáno 120 ml seleničitanu sodného a 4,0 l horké vody (tabulka č. 6). Po důkladném promíchání všech komponentů se substrát naplnil do dvou SACO2 sáčků o hmotnosti 2,6 kg. Po odebrání růstových zkoušek byly sáčky zataveny a přemístěny do propařovací komory. Stejným algoritmem byly připraveny substráty pro *Miscanthus* (tabulka č. 7) a kukuřičná vřetena (tabulka č. 8).

Očkování proběhlo 07. 10. 2020 za sterilních podmínek kulturou *Lentinula edodes*.

Tabulka č. 6 – složení substrátu (piliny listnatých stromů)

Varianty	Počet bloků (ks)	Hmotnost bloků (kg)	Potřeba vody (l)	Množství Na ₂ SeO ₃ (ml)	(20%) pšeničné otruby (kg)	Piliny listnatých stromů (kg)
6 mg/kg	2	2,6	4	120	0,43	2

Tabulka č. 7 – složení substrátu (*Miscanthus*)

Varianty	Počet bloků (ks)	Hmotnost bloků (kg)	Potřeba vody (l)	Množství Na ₂ SeO ₃ (ml)	(20%) pšeničné otruby (kg)	<i>Miscanthus</i> (kg)
6 mg/kg	2	2,6	4	120	0,43	2

Tabulka č. 8 – složení substrátu (kukuřičná vřetena)

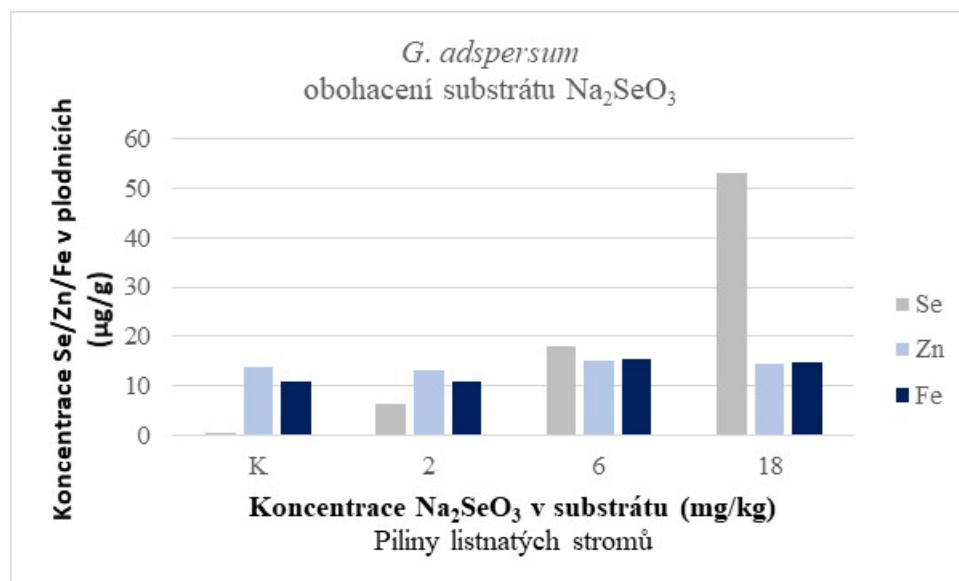
Varianty	Počet bloků (ks)	Hmotnost bloků (kg)	Potřeba vody (l)	Množství Na ₂ SeO ₃ (ml)	(20%) pšeničné otruby (kg)	Kukuřičná vřetena (kg)
6 mg/kg	2	2,6	4	120	0,43	2

5 Výsledky

V experimentální části práce byly zjišťovány závislosti mezi fortifikací substrátů o různém složení rozdílnými koncentracemi Na_2SeO_3 , Na_2SeO_4 a ZnSO_4 a akumulací jednotlivých prvků plodnicemi hub lesklokorek a šiitake. U houby šiitake byl sledován obsah jednotlivých prvků v různých částech plodnic. Byly stanoveny optimální koncentrace solí pro pěstování jednotlivých hub. Pokusy byly zakládány s různě dlouhým časovým odstupem, díky čemuž může být zhodnocen i možný vliv období, kdy byl pokus zakládán. Byl hodnocen vliv koncentrace solí stopových prvků a vliv různých substrátů na výnos šiitake.

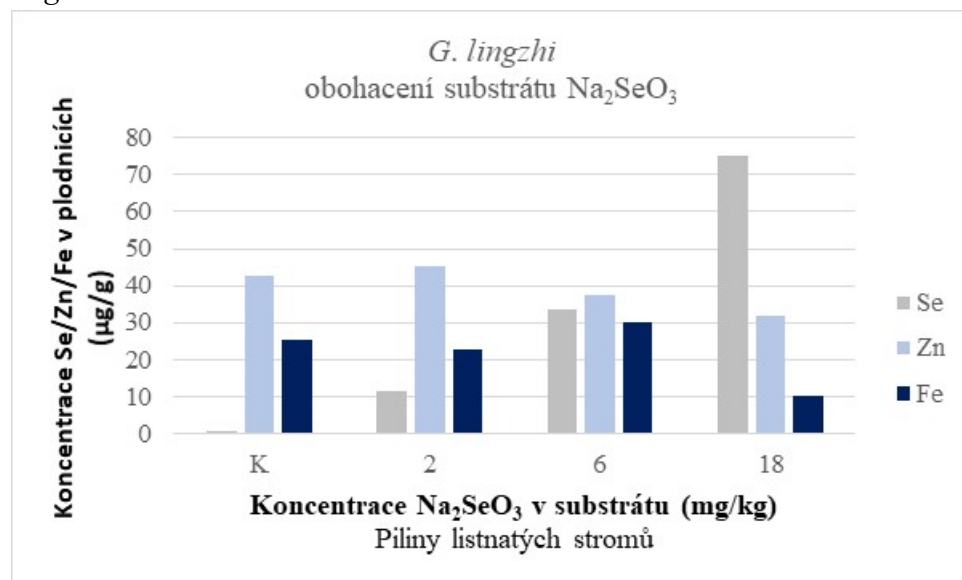
5.1 Pokus č. 1 – Vliv složení a obohacení substrátu různými koncentracemi seleničitanu sodného (Na_2SeO_3) na jeho příjem myceliem *G. adspersum*, *G. lingzhi* a *L. edodes* a koncentraci selenu, zinku a železa v plodnicích

Graf č. 1 odkazuje na lineárně se zvyšující koncentraci selenu v plodnicích *G. adspersum* společně s rostoucí koncentrací seleničitanu sodného v substrátu. Aplikace seleničitanu sodného neměla výrazný vliv na zvýšení ostatních sledovaných prvků v porovnání s kontrolní variantou. Kontrolní varianta dokazuje, že *G. adspersum* obsahuje pouze stopové množství selenu.



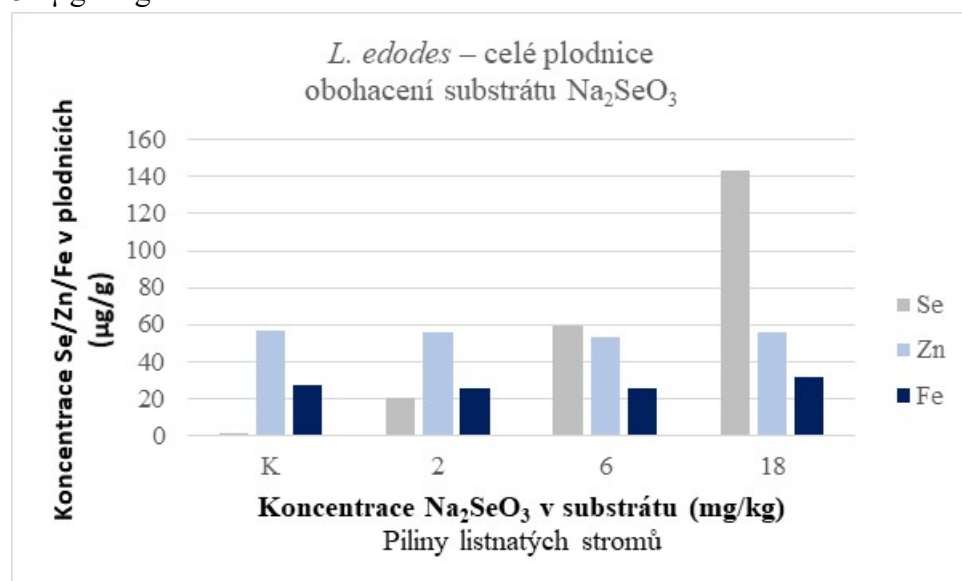
Graf č. 1: Koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích *G. adspersum*

Graf č. 2 sleduje příjem jednotlivých prvků plodnicemi *G. lingzhi*. Je patrné, že tento druh houby obsahuje v plodnicích vyšší podíl zinku a železa, než v případě *G. adpersum*, nicméně u varianty 18 mg Se/kg substrátu je pozorován výrazný pokles obsahu železa v plodnicích. U kontrolní varianty nebylo v plodnicích nalezeno téměř žádné množství selenu. Se zvyšující se koncentrací seleničitanu sodného byl zaznamenán i zvýšený nárůst selenu v plodnicích *G. lingzhi*.



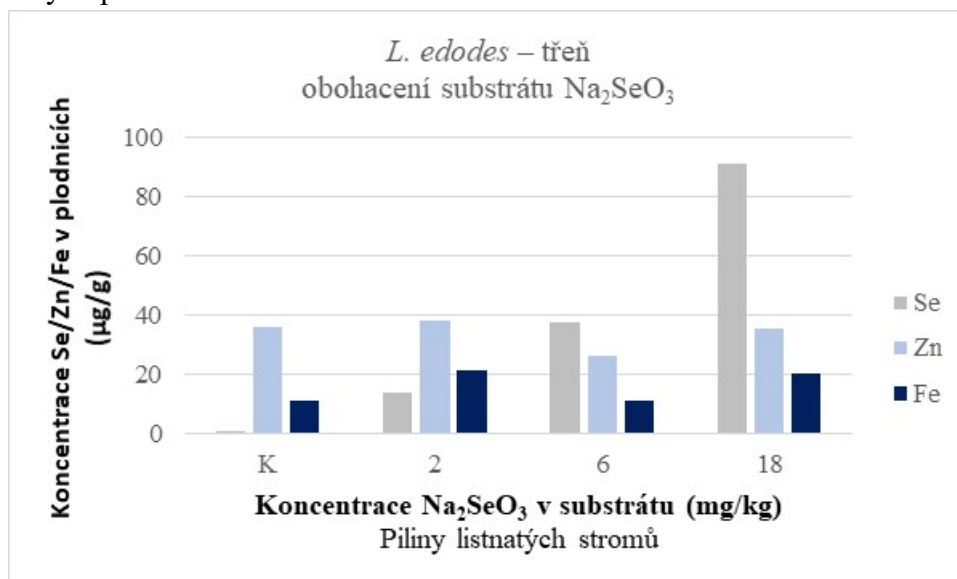
Graf č. 2: Koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích *G. lingzhi*

Graf č. 3 hodnotí příjem selenu, zinku a železa plodnicemi šiitake. V porovnání s lesklokorkami absorbovala šiitake téměř dvojnásobné množství selenu než *G. lingzhi* a až trojnásobné množství než *G. adpersum* ve všech zkoumaných variantách. Kontrolní varianta nezaznamenala stejně jako u předešlých hub téměř žádné stopy selenu. Koncentrace zinku je ve všech variantách konstantní a drží se pod hranicí 60 µg Zn/g suché hmotnosti, stejně tak i obsah železa v plodnicích je ve všech variantách konstantní a pohybuje se na rozhraní mezi 25–31 µg Fe/g suché hmotnosti.



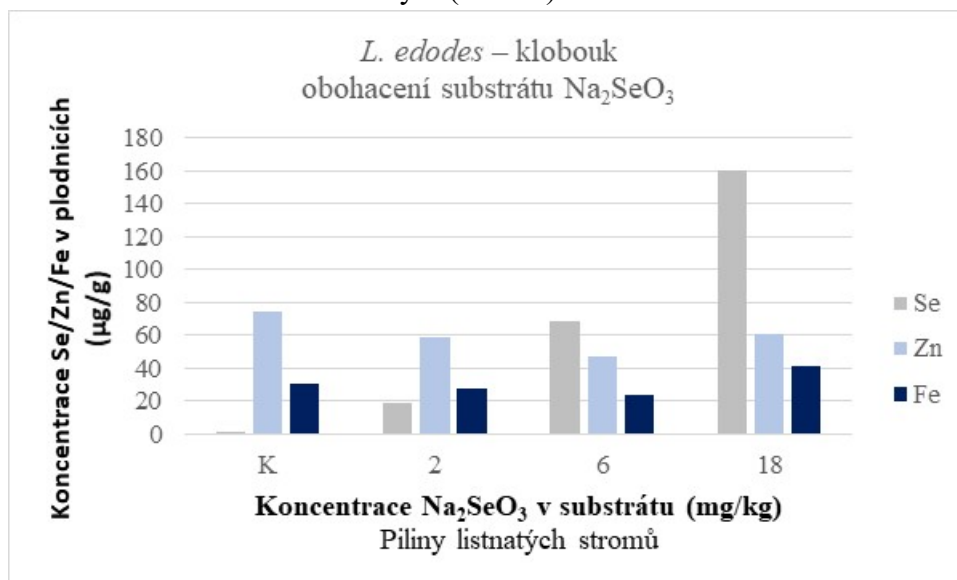
Graf č. 3: Koncentrace selenu, zinku a železa v celých plodnicích *L. edodes*

Z grafu č. 4 vyplývá, že třeně houby šiitake absorbovaly méně selenu než klobouky. Současné i u ostatních sledovaných prvků byly zaznamenány nižší koncentrace, než v případě celých plodnic a klobouků.



Graf č. 4: Koncentrace selenu, zinku a železa v třeních *L. edodes*

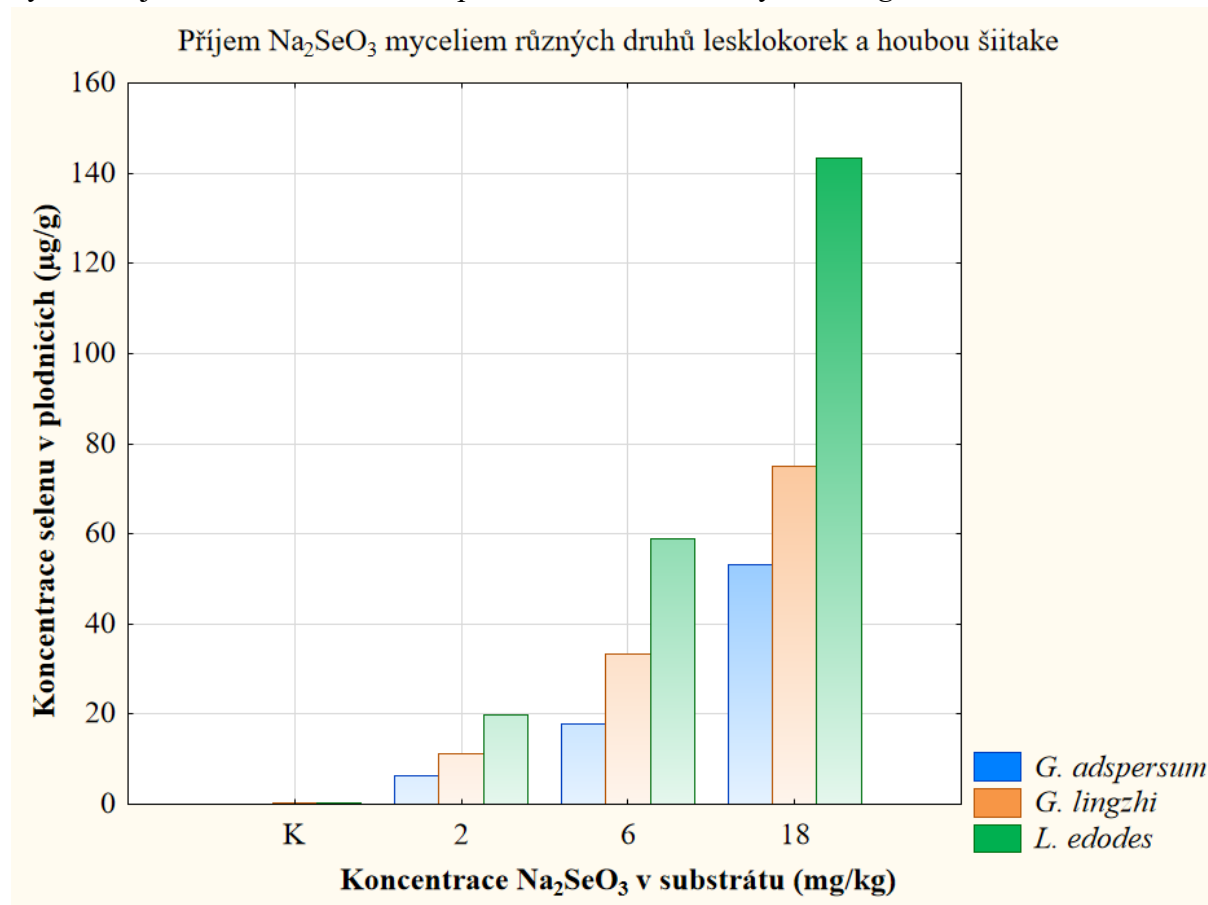
Graf č. 5 dokazuje, že klobouk houby šiitake je klíčovým zdrojem všech sledovaných prvků. Koncentrace selenu v klobouku (160,59 µg Se/g suché hmotnosti) byla nejvyšší v porovnání se třením a celými plodnicemi šiitake u pokusu č. 1. V klobouku šiitake byla u kontrolní varianty zaznamenána nejvyšší koncentrace zinku ze všech pěstovaných hub, včetně lesklokorek. Navíc svou hodnotou převyšuje i ostatní druhy lesklokorek, jejichž substráty byly fortifikované síranem zinečnatým (ZnSO_4).



Graf č. 5: Koncentrace selenu, zinku a železa v kloboucích *L. edodes*

5.1.1 Porovnání příjmu selenu plodnicemi hub *G. adpersum*, *G. lingzhi* a *L. edodes*

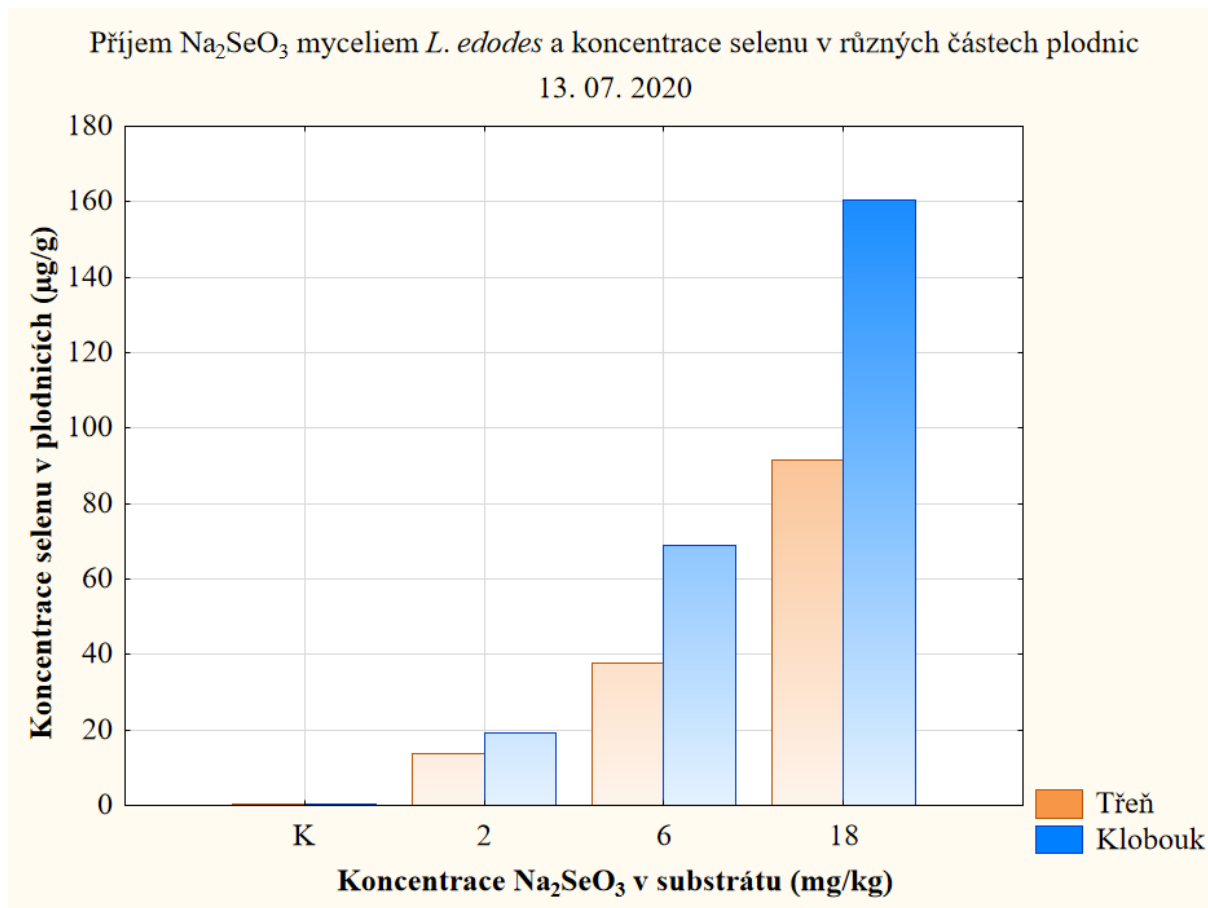
Graf č. 6 porovnává druhy lesklokorek (*G. adpersum*, *G. lingzhi*) a houbu šiitake pěstované v pokusu č. 1. Houby byly pěstované na substrátu fortifikovaném seleničitanem sodným, kde hlavním komponentem byly piliny listnatých stromů. Nejvyšší potenciál v příjmu seleničitanu sodného ze substrátu vykazala houba šiitake, která ve všech zkoumaných variantách akumulovala nejvíce selenu v plodnicích. V porovnání lesklokorek byly významnější koncentrace selenu v plodnicích zaznamenány u *G. lingzhi*.



Graf č. 6: Porovnání příjmu selenu plodnicemi hub *G. adpersum*, *G. lingzhi* a *L. edodes*

5.1.2 Porovnání příjmu selenu různými částmi plodnic *L. edodes*

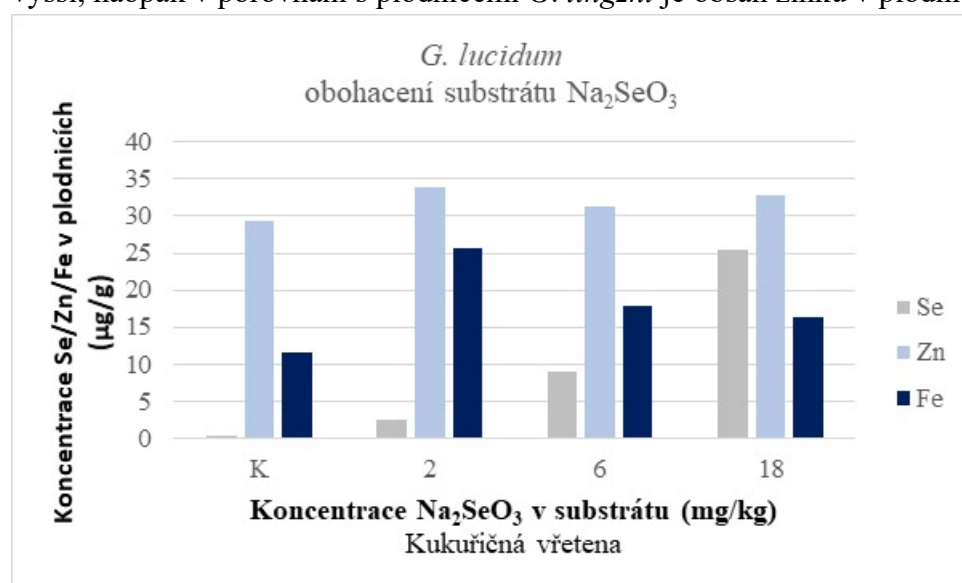
Graf č. 7 vyhodnocuje množství přijatého selenu různými částmi plodnic šiitake. Nejvyšší koncentrace selenu byly naměřeny v klobouku houby šiitake. V třeních bylo nalezeno výrazně méně selenu oproti klobouku šiitake, a to hlavně u koncentrace 6 mg Se/kg a 18 mg Se/kg substrátu.



Graf č. 7: Porovnání koncentrací selenu v různých částech plodnic *L. edodes*

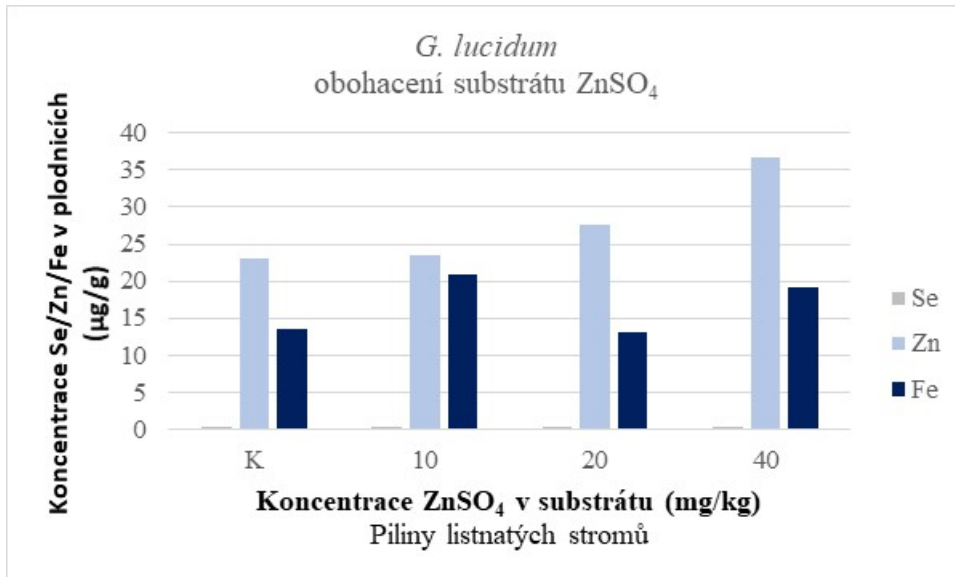
5.2 Pokus č. 2 – Vliv složení a obohacení substrátu různými koncentracemi seleničitanu sodného (Na_2SeO_3) a síranu zinečnatého (ZnSO_4) na jeho příjem myceliem *G. lucidum* a koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích

Graf č. 8 sleduje koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích *G. lucidum*. Pro tento pokus byla jako hlavní složka substrátu použita kukuřičná vřetena. Mimo jiné byl substrát obohacen seleničitanem sodným. Z grafu se dá usuzovat, že *G. lucidum* nepřijala výrazné množství selenu z fortifikovaného substrátu. Ve všech případech převyšuje zinek a železo svými naměřenými hodnotami získané koncentrace selenu v plodnicích. V porovnání s houbou *G. adpersum* je množství zinku v plodnicích *G. lucidum* pěstované na kukuřičných vřetenech vyšší, naopak v porovnání s plodnicemi *G. lingzhi* je obsah zinku v plodnicích nižší.



Graf č. 8: Koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích *G. lucidum*

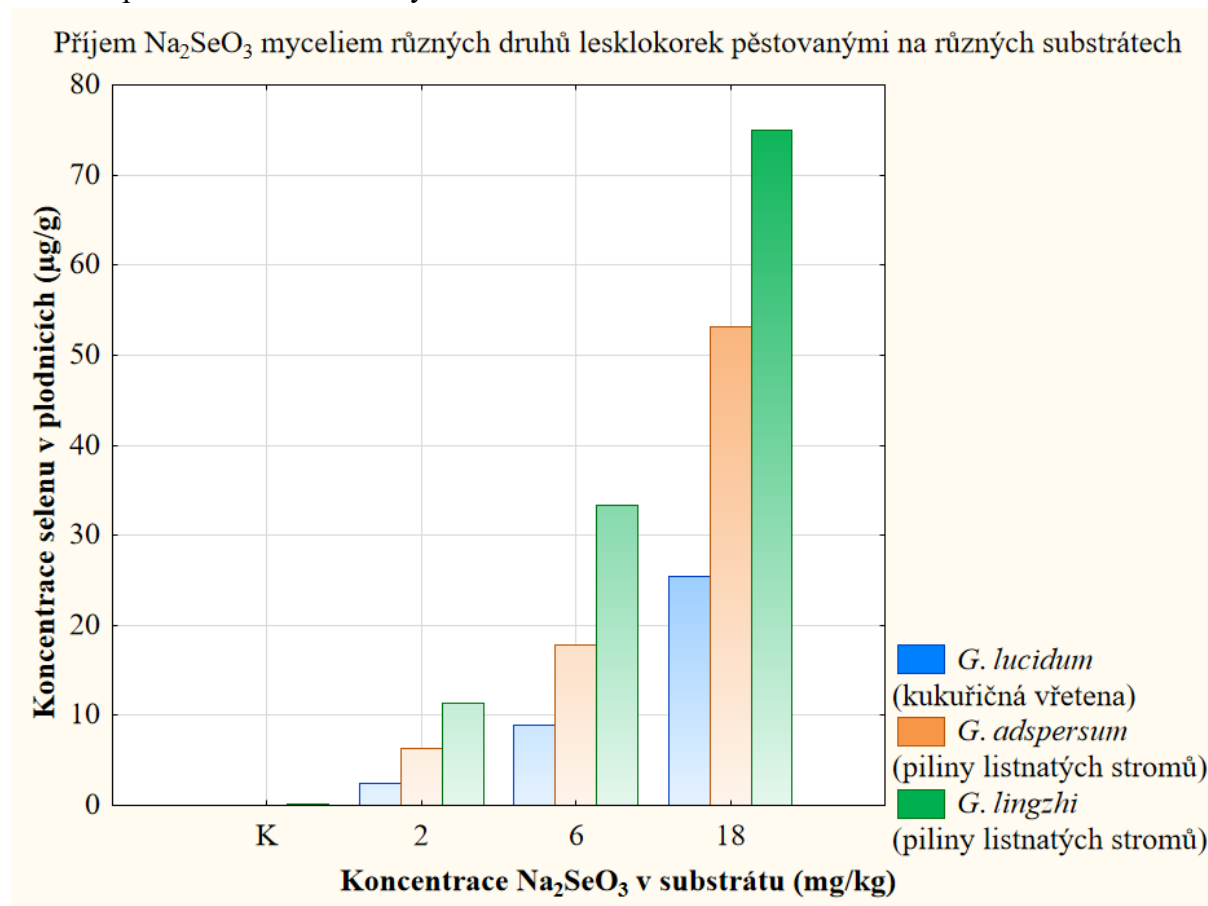
Graf č. 9 se zabývá houbou *G. lucidum* kultivovanou na pilinovém substrátu obohaceném síranem zinečnatým ($ZnSO_4$). Koncentrace zinku v plodnicích se s každou dávkou této soli nepatrně zvyšovaly. Varianta s nejvyšší koncentrací $ZnSO_4$ v substrátu, absorbovala nejvíce zinku do plodnic. Naměřená hodnota je nejvyšší i v rámci všech provedených pokusů s aplikací $ZnSO_4$.



Graf č. 9: Koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích *G. lucidum*

5.2.1 Porovnání příjmu selenu různými druhy lesklokorek pěstovanými na různých substrátech

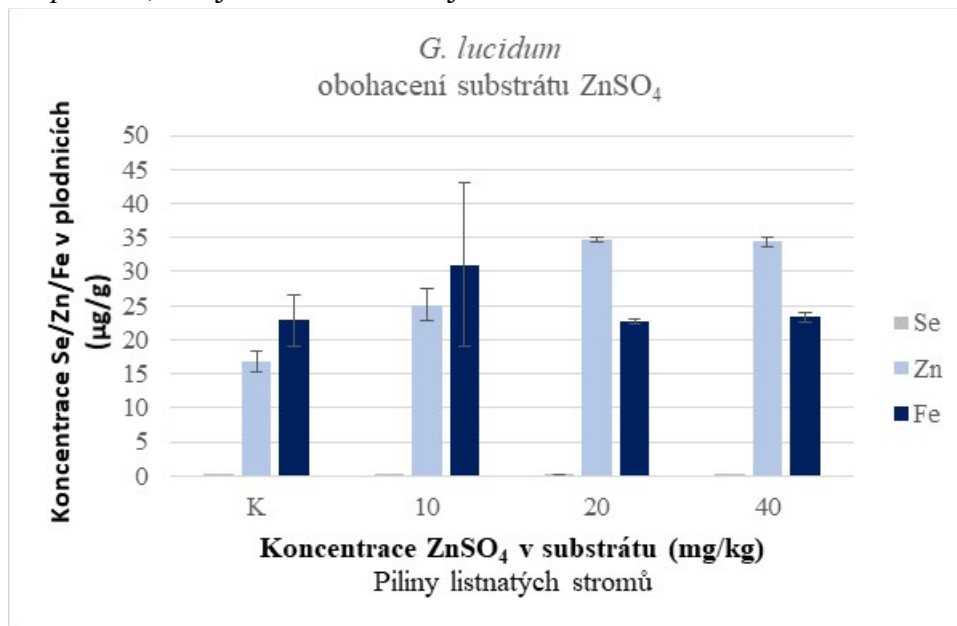
Graf č. 10 je důkazem toho, že piliny listnatých stromů jsou pro pěstování lesklokorky vhodnější než kukuřičná vřetena, a že zvolený druh lesklokorky má do značné míry vliv na příjem selenu plodnicemi. Nejvyšší příjem selenu byl zaznamenán u houby *G. lingzhi*, kterou následovala houba *G. adpersum*. Podstatně méně selenu bylo naměřeno v plodnicích *G. lucidum* pěstované na kukuřičných vřetenech.



Graf č. 10: Porovnání příjmu selenu plodnicemi hub různých druhů lesklokorek pěstovanými na různých substrátech

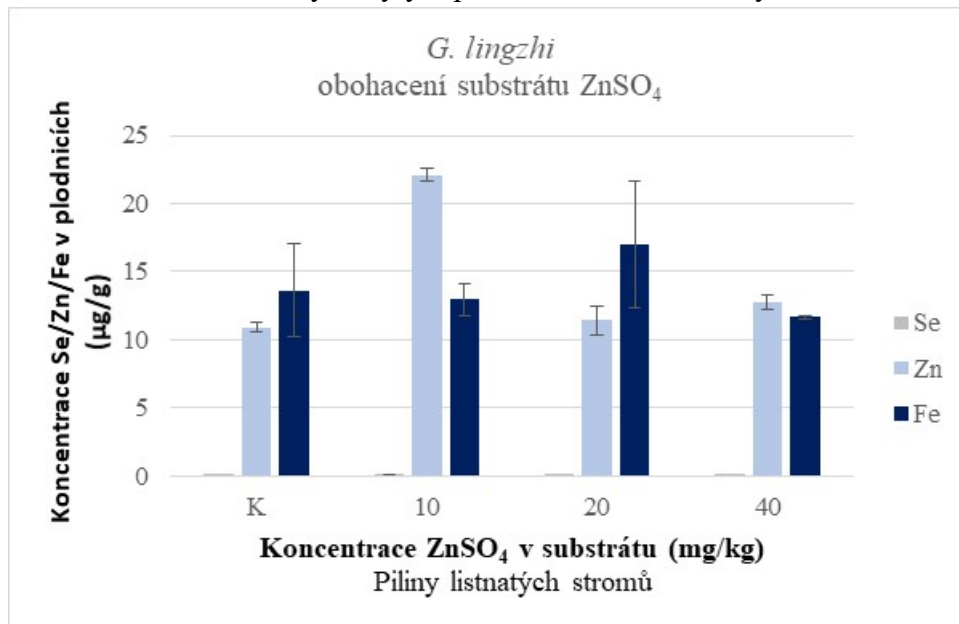
5.3 Pokus č. 3 – Vliv složení a obohacení substrátu různými koncentracemi síranu zinečnatého na jeho příjem myceliem *G. lucidum* a *G.lingzhi* a koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích

Graf č. 11 odkazuje na příjem zinku plodnicemi *G. lucidum*. Ve srovnání s kontrolou je u ostatních variant viditelný nárůst koncentrace zinku v plodnicích. Současně lze pozorovat, že *G. lucidum* obsahuje podobné množství železa jako ostatní druhy lesklokorek, kromě *G. adpersum*, kde je obsah železa nejnižší.



Graf č. 11: Koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích *G. lucidum* po aplikaci ZnSO₄
Průměr (n = 3) ± SD

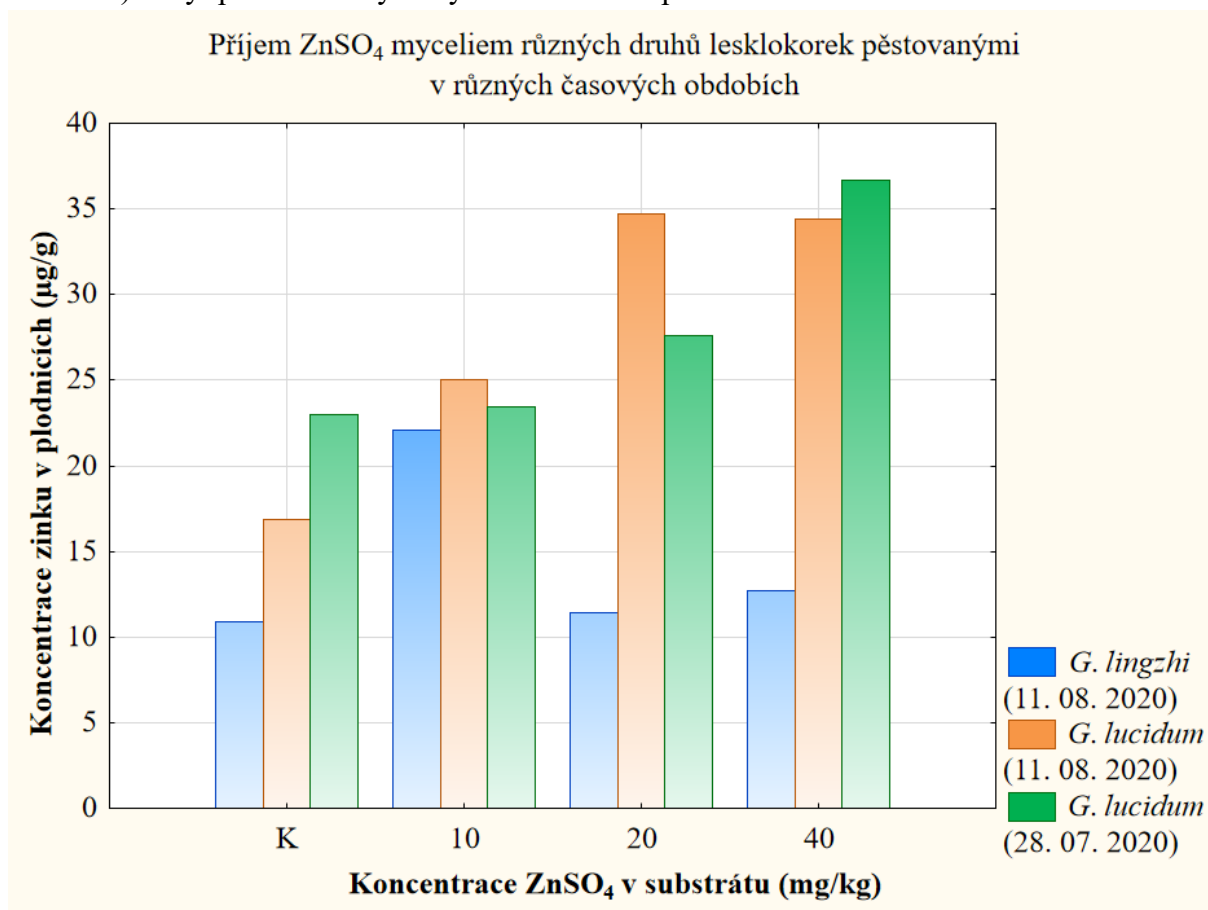
Graf č. 12 ukazuje, že *G. lingzhi* nedokázala absorbovat shodné množství zinku jako v případě *G. lucidum* ze stejného pokusu. Koncentrace zinku v plodnicích je relativně nízká a velmi kolísá. U varianty ošetřené nejnižší dávkou ZnSO₄ (10 mg Zn/kg substrátu) byl zinek naměřen až v dvojnásobném množství, než v případě kontrolní varianty. Stejně jako u *G. lucidum* ani u této houby nebyly v plodnicích zaznamenány téměř žádné stopy selenu.



Graf č. 12: Koncentrace selenu, zinku a železa v plodnicích *G. lingzhi* po aplikaci ZnSO₄
Průměr (n = 3) ± SD

5.3.1 Porovnání příjmu zinku různými druhy lesklokorek pěstovanými v různých časových obdobích na substrátech fortifikovaných síranem zinečnatým (ZnSO₄)

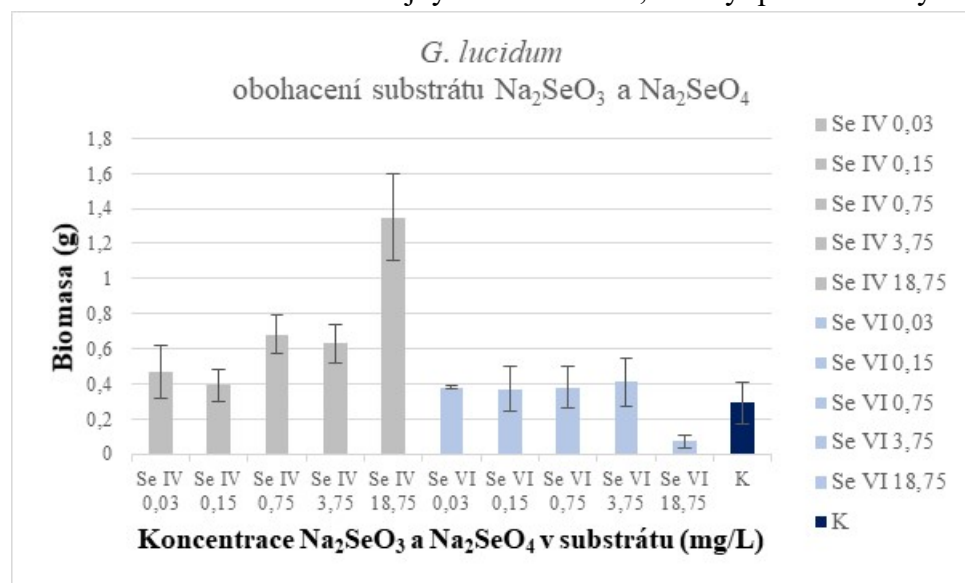
Graf č. 13 srovnává dva pokusy zakládané s dvoutýdenním časovým odstupem. Jako hlavní složka substrátů byly použity piliny listnatých stromů. Substráty byly obohaceny síranem zinečnatým (ZnSO₄). Kontrolní varianta naznačuje, že *G. lingzhi* (11. 08. 2020) obsahuje přirozeně méně zinku v plodnicích. Nejnižší koncentrace síranu zinečnatého (10 mg Zn/kg substrátu) prokázala výrazný nárůst zinku v plodnicích *G. lingzhi* (11. 08. 2020) a přiblížila se hodnotám *G. lucidum* (28. 07. 2020) a *G. lucidum* (11. 08. 2020). Střední koncentrace (20 mg Zn/kg substrátu) zaznamenala prudký pokles zinku v plodnicích *G. lingzhi* (11. 08. 2020), naopak u obou kmenů *G. lucidum* (28. 07. 2020, 11. 08. 2020) se koncentrace zinku v plodnicích zvyšovala. Nejvyšší koncentrace síranu zinečnatého (40 mg Zn/kg substrátu) zaznamenala další nárůst koncentrace zinku v plodnicích *G. lucidum* (28. 07. 2020), téměř stejné hodnoty jako u střední varianty vykazovala *G. lucidum* (11. 08. 2020) a u *G. lingzhi* (11. 08. 2020) nebyl pozorován výrazný nárůst zinku v plodnicích.



Graf č. 13: Porovnání příjmu zinku různými druhy lesklokorek pěstovanými v různých časových obdobích

5.4 Pokus č. 4 – Vliv obohacení submerzní kultivace pěti různými koncentracemi selenanu a seleničitanu sodného na jeho příjem myceliem a přírůstek biomasy u *G. lucidum*

Graf č. 14 hodnotí přírůstek biomasy u houby *G. lucidum* pěstované submerzně po aplikaci Na_2SeO_3 a Na_2SeO_4 . Nejvyšší nárůst biomasy byl zaznamenán u koncentrace seleničitanu sodného 18,75 mg Se/l média, naopak u selenanu sodného byl přírůstek v této koncentraci nejnižší. Z grafu plyne, že aplikace seleničitanu sodného zvýšila výnos u všech sledovaných variant v porovnání s kontrolou. Přírůstek selenanu sodného byl ve všech variantách konstantní mimo nejvyšší koncentraci, kde byl pozorován výrazný pokles biomasy.

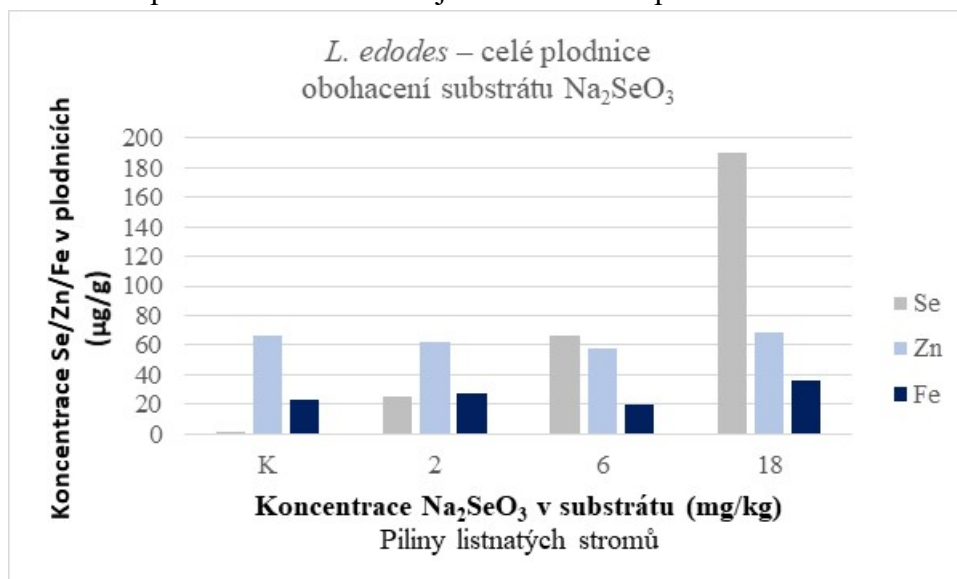


Graf č. 14: Porovnání přírůstku biomasy submerzní kultivace *G. lucidum* obohacené Na_2SeO_3 a Na_2SeO_4

Hodnoty průměrů ($n = 3$) \pm SD

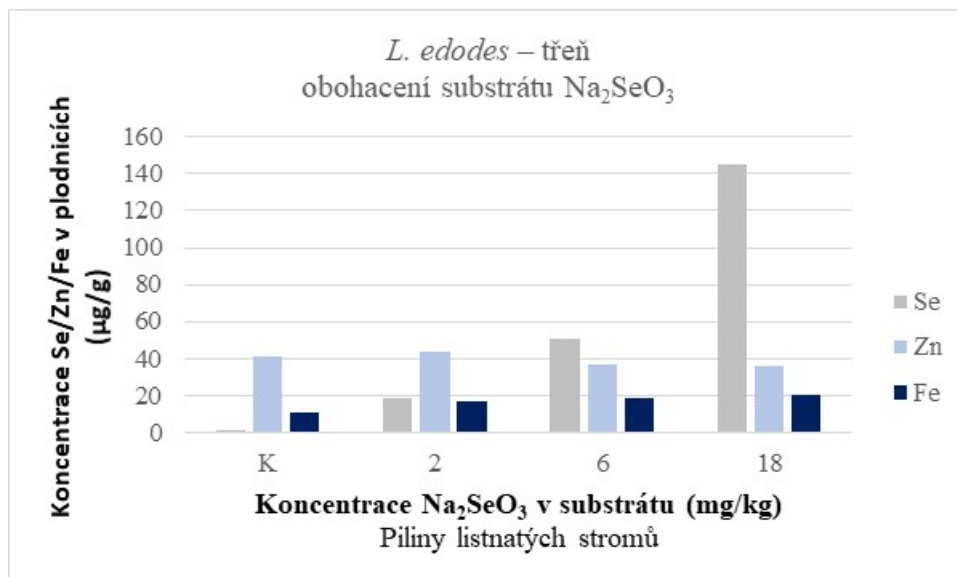
5.5 Pokus č. 5 – Vliv složení a obohacení substrátu třemi různými koncentracemi seleničitanu sodného (Na_2SeO_3) na jeho příjem myceliem *L. edodes* a výnos plodnic

Graf č. 15 znázorňuje lineárně se zvyšující koncentraci selenu v celých plodnicích *L. edodes*. Napříč všemi variantami je obsah zinku v plodnicích konstantní.



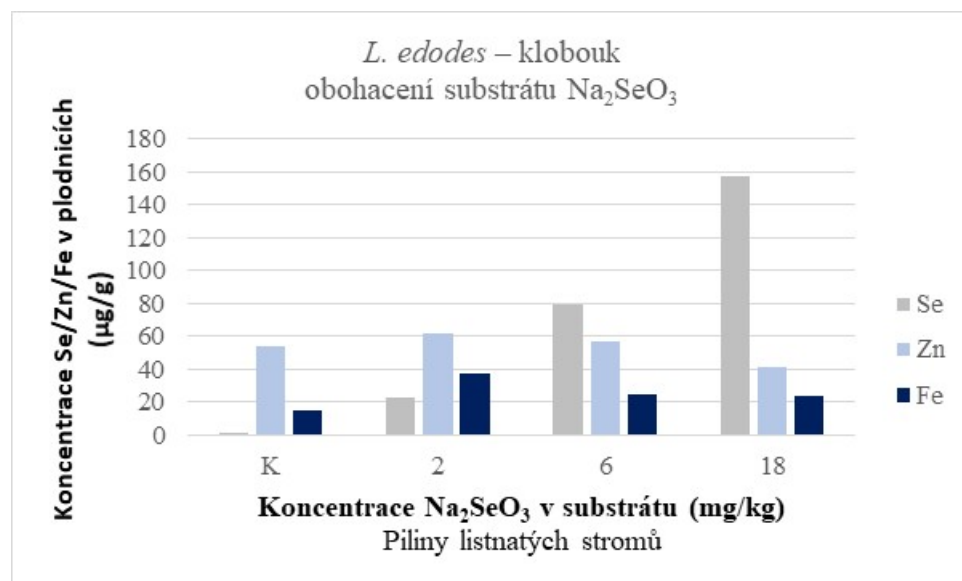
Graf č. 15: Koncentrace selenu, zinku a železa v celých plodnicích *L. edodes*

Graf č. 16 zobrazuje obsah jednotlivých prvků v třeních *L. edodes*. Stejně jako u předešlých variant se obsah selenu v plodnicích zvyšoval s rostoucí koncentrací seleničitanu sodného v substrátu.



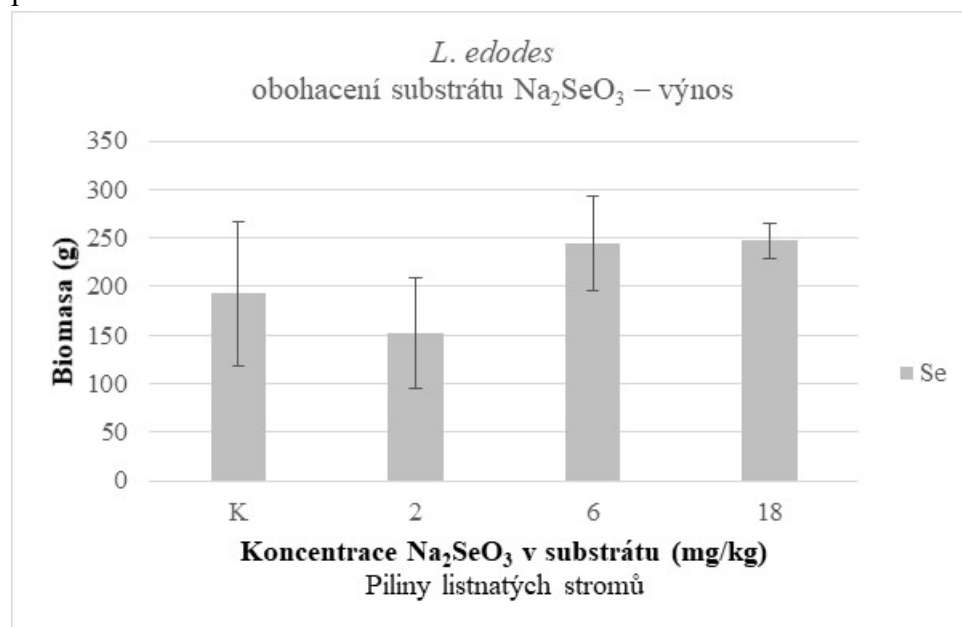
Graf č. 16: Koncentrace selenu, zinku a železa v třeních *L. edodes*

Graf č. 17 sleduje množství přijatých stopových prvků kloboukem *L. edodes*. Je zřejmé, že množství přijatého selenu je ovlivněno koncentrací dodanou do substrátu, které se zvyšovalo se zvyšující se koncentrací. Koncentrace 2 mg Se/kg substrátu zvýšila akumulaci železa a zinku v kloboucích *L. edodes*.



Graf č. 17: Koncentrace selenu, zinku a železa v kloboucích *L. edodes*

Graf č. 18 znázorňuje výnos houby štiitake. Nejvyšší výnos byl zaznamenán u varianty s nejvyšší koncentrací (18 mg Se/kg substrátu) seleničitanu sodného v substrátu. Téměř shodné výsledky byly sledovány u střední koncentrace (6 mg Se/kg substrátu) seleničitanu sodného přidaného do substrátu.

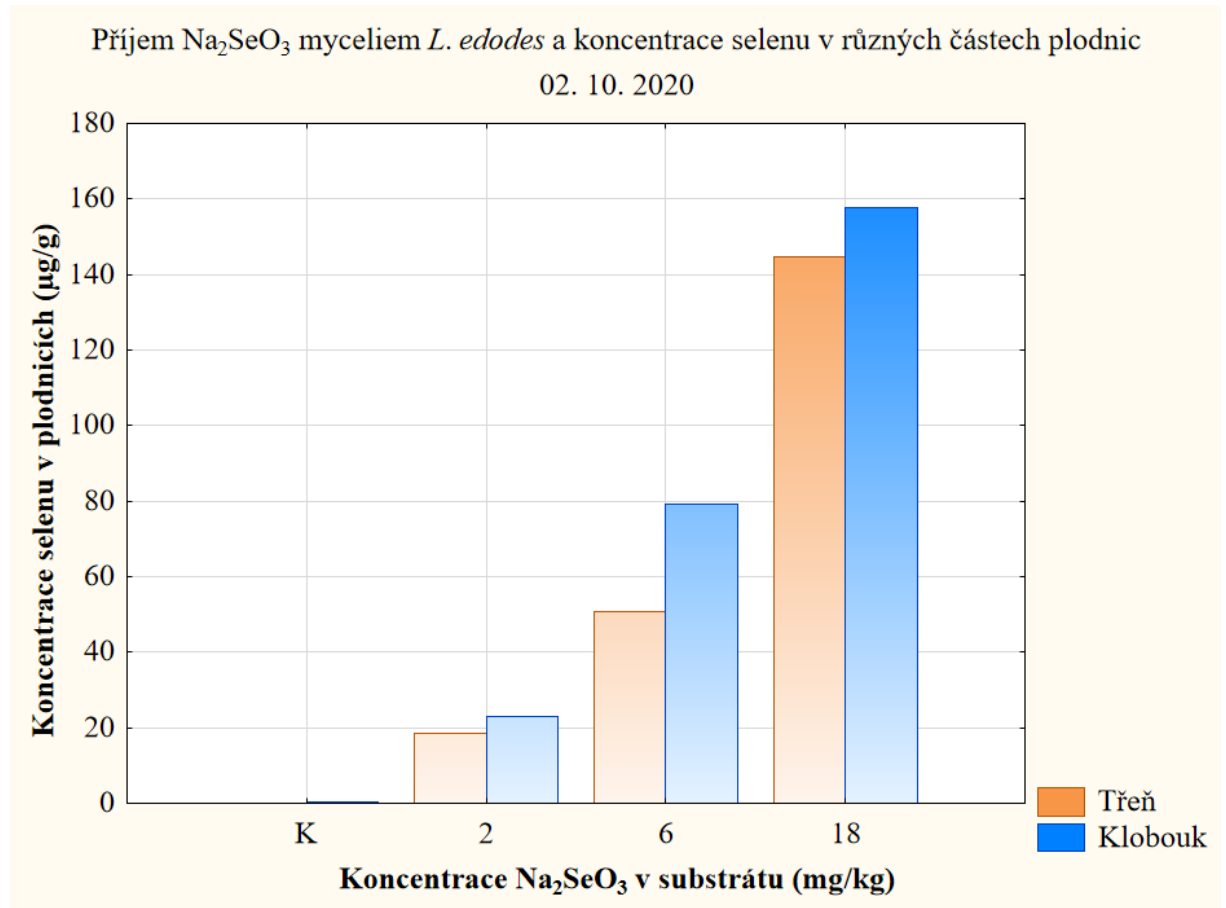


Graf č. 18: Výnos *L. edodes*

Průměr ($n_K = 3$, $n_{2 \text{ mg/kg}} = 4$, $n_{6 \text{ mg/kg}} = 3$, $n_{18 \text{ mg/kg}} = 4$) \pm SD

5.5.1 Porovnání příjmu selenu různými částmi plodnic *L. edodes*

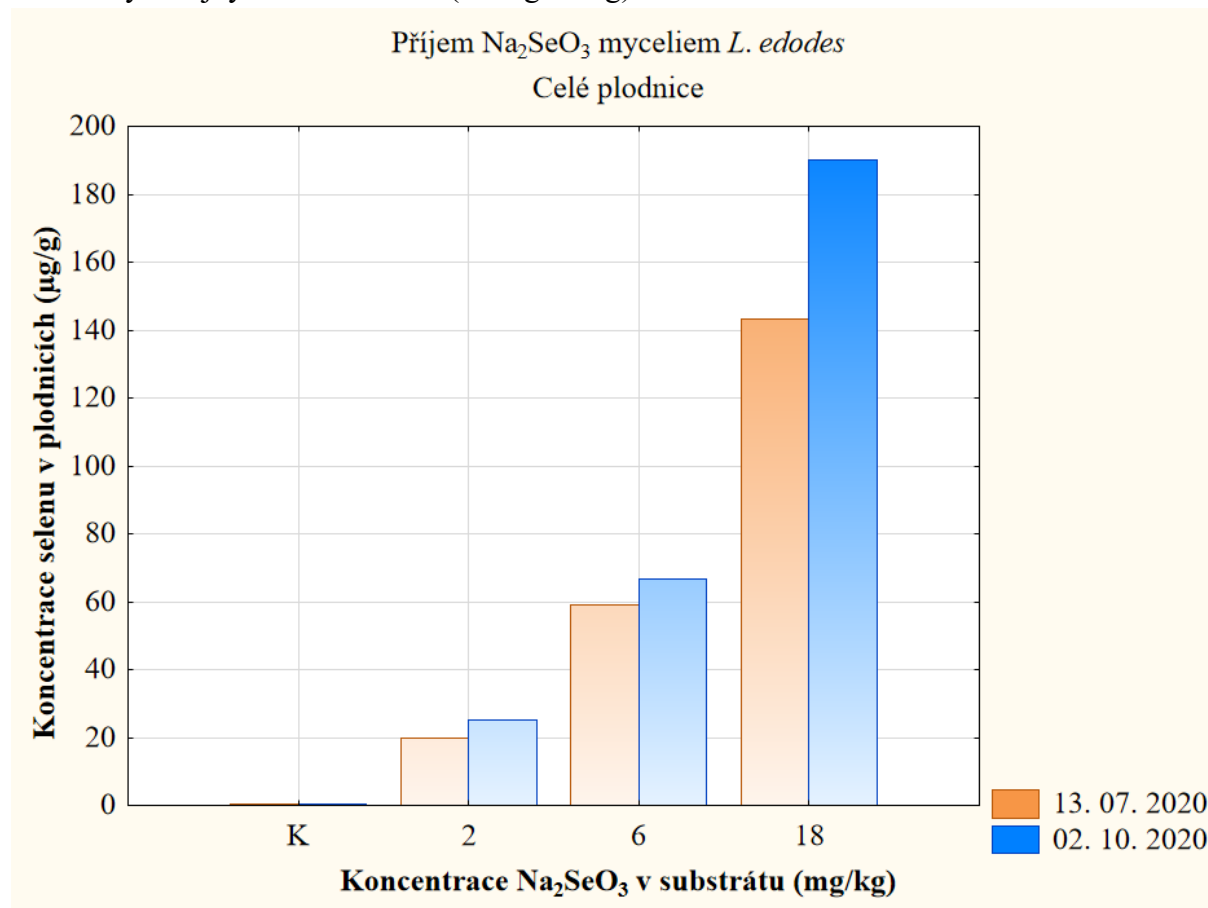
Graf č. 19 porovnává množství selenu přijatého třením a kloboukem houby šiiitake. V tomto pokusu bylo zjištěno, že třeně obsahovaly méně selenu než klobouky, které akumulovaly ve všech variantách více selenu.



Graf č. 19: Porovnání koncentrací selenu v různých částech plodnic *L. edodes*

5.5.2 Porovnání příjmu selenu *L. edodes* pěstovanou v různých časových obdobích

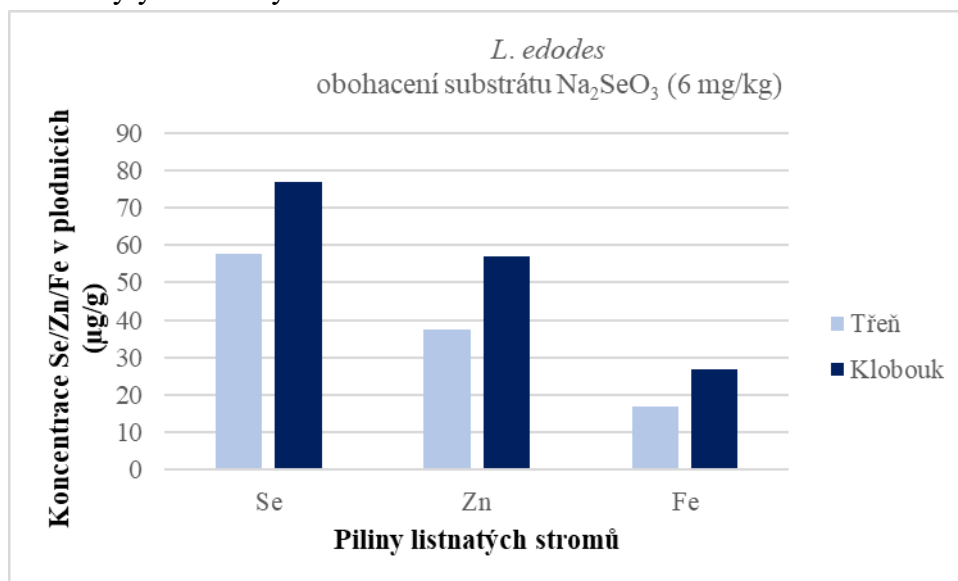
Graf č. 20 srovnává pokusy zakládání 13. 07. 2020 a 02. 10. 2020, kde byl sledován příjem selenu plodnicemi houby šitake. Pokus zakládání 02. 10. 2020 zaznamenal vyšší koncentrace selenu v plodnicích ve všech obohacovaných variantách. Výraznější rozdíly byly sledovány u nejvyšší koncentrace (18 mg Se/kg) seleničitanu sodného v substrátu.



Graf č. 20: Porovnání příjmu selenu houbami *L. edodes* pěstovanými v různých časových obdobích

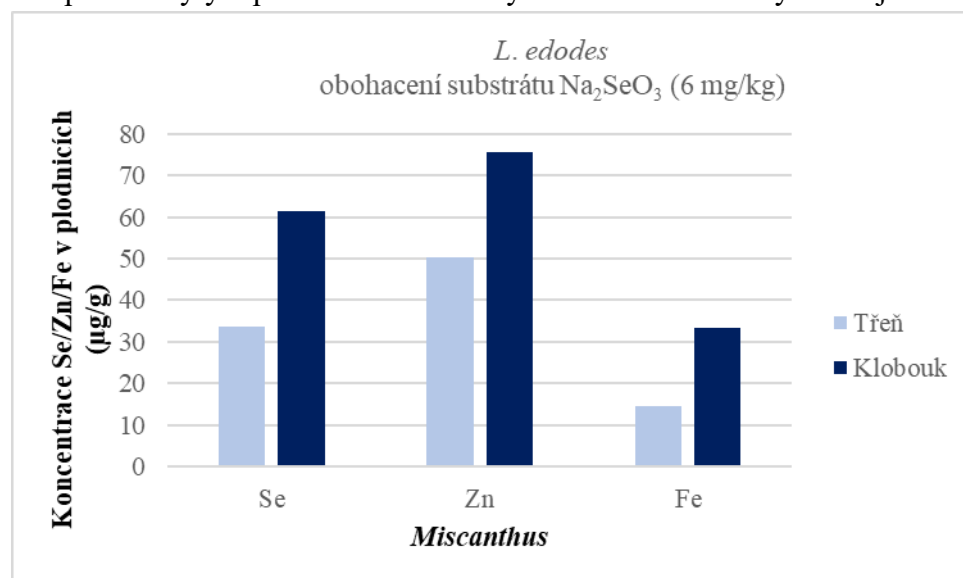
5.6 Pokus č. 6 – Vliv složení a obohacení různých substrátů střední koncentrací (6 mg/kg) seleničitanu sodného (Na_2SeO_3) a jeho příjem myceliem *L. edodes* a výnos plodnic

Graf č. 21 sleduje příjem stopových prvků různými částmi plodnic *L. edodes*. Pro kultivaci šitake byly jako hlavní komponent substrátu použity piliny listnatých stromů. Substrát byl fortifikován střední koncentrací (6 mg Se/kg substrátu) seleničitanu sodného. Graf ukazuje, že nejvíce selenu hromadí klobouk, následovaný tření. Nejnižší koncentrace zinku a železa byly naměřeny v třeních.



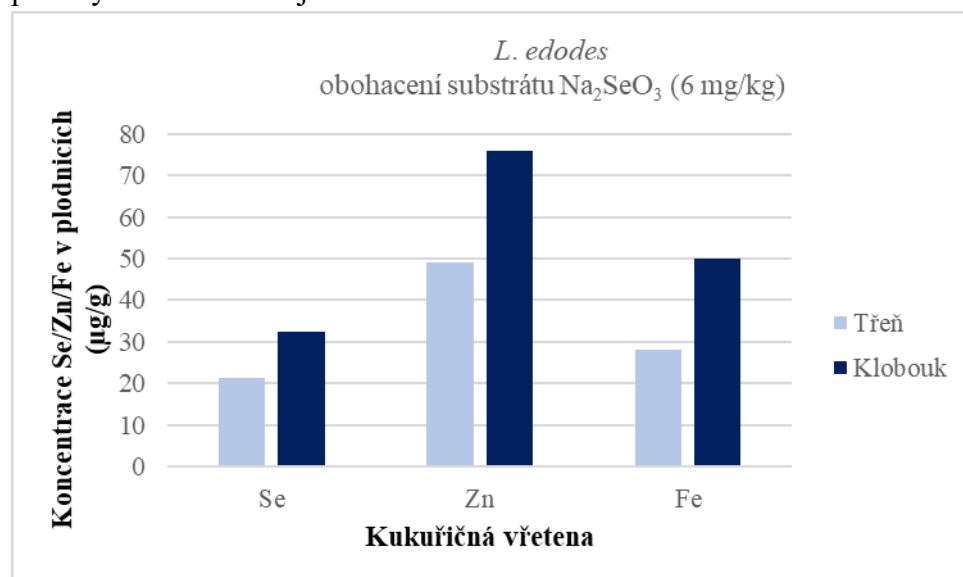
Graf č. 21: Koncentrace selenu, zinku a železa v různých částech plodnic *L. edodes* pěstovanou na pilinách listnatých stromů

Graf č. 22 znázorňuje množství přijatých prvků různými částmi plodnic *L. edodes*, u které byl jako hlavní složka substrátu použit *Miscanthus*. U tohoto substrátu bylo zjištěno, že selen nebyl přijat v tak velké míře jako v případě pilin listnatých stromů a kukuřičných větven. Naopak ale byly v plodnicích naměřeny srovnatelné hodnoty zinku jako u kukuřičných větven.



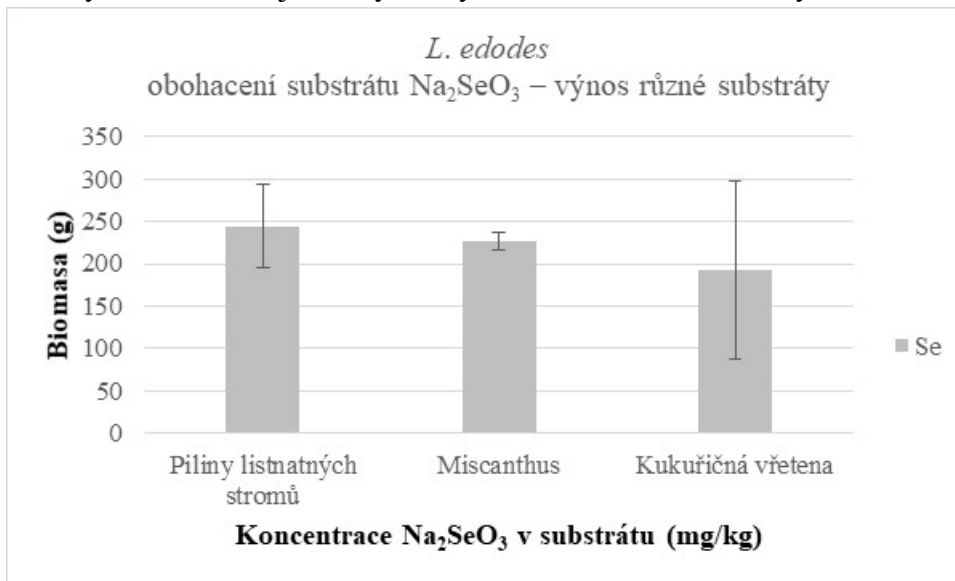
Graf č. 22: Koncentrace selenu, zinku a železa v různých částech plodnic *L. edodes* pěstovanou na *Miscanthusu*

Graf č. 23 ukazuje, že kukuřičná větvena přispěla k akumulaci železa v plodnicích *L. edodes*. Byly naměřené i významné hodnoty zinku. Nicméně hodnoty selenu jsou ze všech tří použitých substrátů nejnižší.



Graf č. 23: Koncentrace selenu, zinku a železa v různých částech plodnic *L. edodes* pěstovanou na kukuřičných větvenech

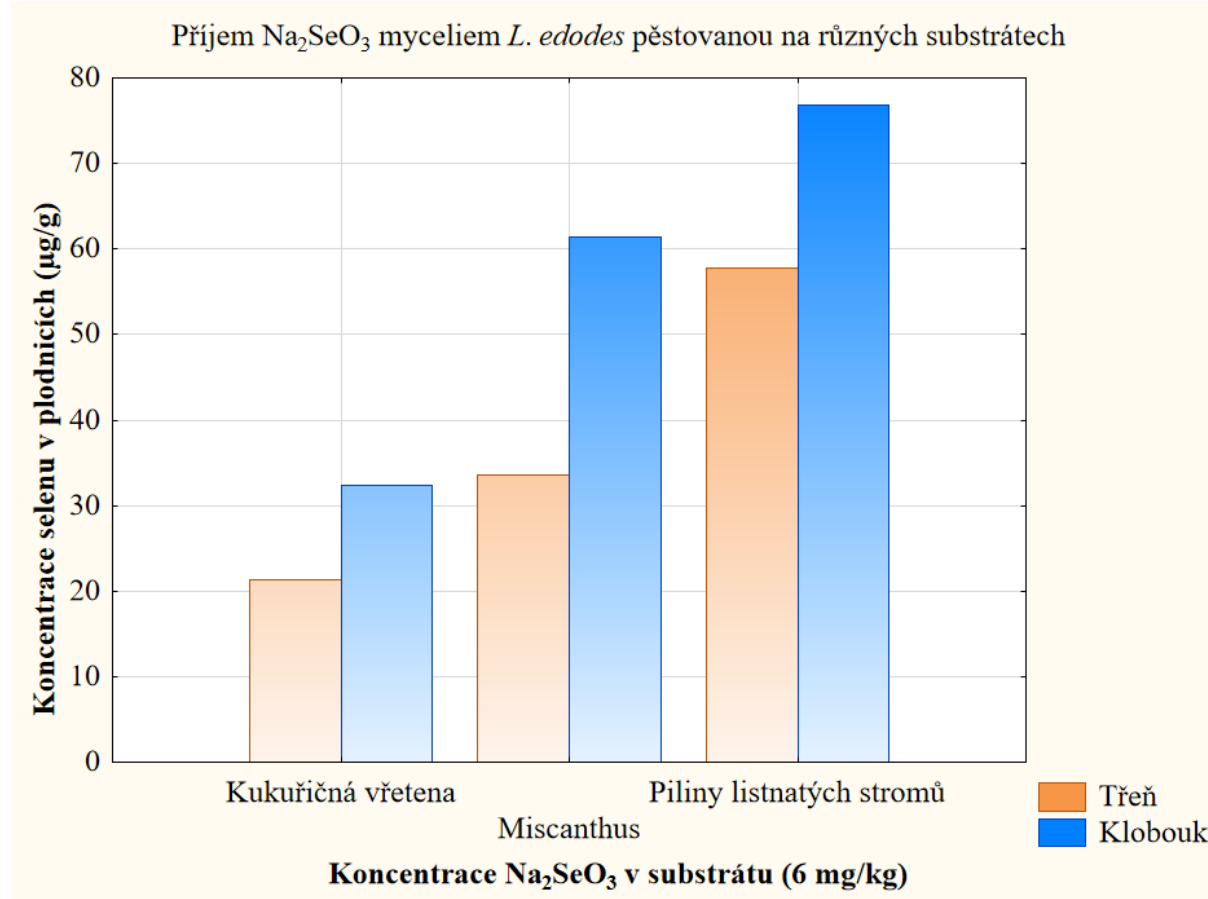
Graf č. 24 ukazuje, že nejvyššího výnosu bylo dosaženo u hub pěstovaných na pilinách listnatých stromů. Nejnižší výnos byl zaznamenán u kukuřičných vřeten.



Graf č. 24: Výnos *L. edodes* pěstovanou na různých substrátech
Průměr ($n_{\text{piliny}} = 3$, $n_{\text{Miscanthus}} = 2$, $n_{\text{kukuřičná vřetena}} = 2$) \pm SD

5.6.1 Porovnání příjmu selenu myceliem *L. edodes* pěstovanou na různých substrátech obohacené střední koncentrací (6 mg Se/kg) Na_2SeO_3

Graf č. 25 porovnává klobouk a třeň houby *L. edodes*, která byla pěstovaná na různých substrátech s přidávkou střední koncentrace (6 mg Se/kg substrátu) seleničitanu sodného (Na_2SeO_3). Z grafu je zřejmé, že koncentrace selenu v klobouku šiitake byla nejvyšší u všech sledovaných substrátů. Současně se ukázalo, že piliny listnatých stromů jsou nejlepším materiálem pro pěstování šiitake, a že při použití tohoto substrátu přijaly klobouky šiitake nejvíce selenu. Nejméně selenu bylo naměřeno v třeních šiitake, a to u všech variant substrátů. Kukuřičná vřetena se jako vhodný substrát pro absorpci selenu plodnicemi šiitake neosvědčila.



Graf č. 25: Porovnání příjmu selenu různými částmi hub *L. edodes* pěstovaných na různých substrátech

6 Diskuze

V současnosti lze pozorovat výrazný zájem o výzkum v oblasti biofortifikace kultivovaných hub stopovými prvky. Obvykle platí, že substrát pro pěstování hub je doplněn pouze o jeden stopový prvek (Rzymiski et al. 2016). To platí i pro naši práci. Nicméně Poniedzialek et al. (2018) a Rzymiski et al. (2016) využívaly ve svých experimentech k obohacení substrátů různé kombinace prvků (Se+Cu+Zn, Se+Zn, Se+Cu).

Předložená práce sledovala absorpci selenu a zinku houbami *G. adspersum*, *G. lingzhi* a *G. lucidum* a houbou *L. edodes* (šiitake) ze substrátů obohacených anorganickými solemi těchto prvků (Na_2SeO_3 , Na_2SeO_4 , ZnSO_4). Těmto houbám se přisuzuje schopnost akumulovat prvky ze substrátů a přeměňovat anorganickou formu selenu na organickou (Chen et al. 2021b; Hu et al. 2019; Niedzielski et al. 2015; Rzymiski et al. 2016; Turło et al. 2010). Je proto důležité vyhodnotit, zda představují zdroj biodostupného selenu případně jiných prvků a mohou být využity při suplementaci. S ohledem na schopnost hub bioakumulovat selen, zinek nebo železo ze substrátů, na kterých jsou kultivované, vyznačují se tyto houby cennými nutričními vlastnostmi (Velez et al. 2019). Fang et al. (2018) uvádí, že u různých druhů hub se může přijatý selen objevovat v různých formách, ve většině případů se však vyskytuje ve formě selenoproteinů. *G. lucidum* pěstovaná na selenem obohaceném médiu potvrdila, že 80 % anorganického selenu bylo transformováno do jeho organické formy, která se primárně vázala na proteiny (Fang et al. 2018). Analýza distribuce selenu v plodnicích *G. lucidum* zjistila, že více než 50 % selenu bylo integrováno do proteinů a 10 % do polysacharidů (Rzymiski et al. 2016). Zhou et al. (2021) dodává, že anorganický selen je v plodnicích hub transformován nejčastěji do selenoaminokyselin selenomethioninu, selenocysteinu a methylselenocysteinu a konstatuje, že schopnost akumulovat selen vykazují také houby *Pleurotus florida*, *Lentinula edodes*, *Hericiium erinaceus*, *Agaricus bisporus* a *Auricularia auricular*. K těmto názorům se přidává také Rzymiski et al. (2016) který uvádí, že *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* nebo *Pholiota nameko* prokázaly signifikantní schopnost pojmout selen ze substrátu a akumulovat ho v plodnicích. Tato zjištění byla ověřena i v naší práci. V plodnicích *G. lingzhi*, *G. adspersum*, *G. lucidum* a *L. edodes* byly zaznamenány výrazně vyšší koncentrace selenu u variant pěstovaných na substrátech obohacených anorganickými solemi tohoto prvku v porovnání s kontrolními variantami bez přídavku seleničitanu sodného.

Celkový obsah selenu v houbách se pohybuje v rozmezí 0,5–20 $\mu\text{g/g}$ suché hmotnosti (Niedzielski et al. 2015) a v případě zinku 25–200 $\mu\text{g/g}$ suché hmotnosti (Muszyńska et al. 2016). Zjištěné koncentrace selenu v plodnicích v naší práci byly u lesklokorek v rozmezí 0,06–0,40 $\mu\text{g/g}$ suché hmotnosti a u šiitake byla naměřena koncentrace 0,26–0,27 $\mu\text{g/g}$ suché hmotnosti. Tyto výsledky do značné míry odpovídají předchozím studiím. Rozpětí zinku v plodnicích u pěstovaných hub v naší práci se pohybovalo od 10,93–74,16 $\mu\text{g/g}$ suché hmotnosti. Bhatia et al. (2013) konstatuje, že úroveň selenu v plodnicích u nefortifikovaných hub jsou nízké a výsledné koncentrace v plodnicích jsou v typickém rozmezí volně rostoucích a kultivovaných druhů hub *Pleurotus* (0,12–3,4 $\mu\text{g/g}$ suché hmotnosti). To je velmi podobné rozmezí u široce kultivovaného *A. bisporus* (0,2–3,6 $\mu\text{g/g}$ suché hmotnosti) a mnohem nižší než u houby *Boletus edulis*, u které byl obsah selenu v hodnotách až 70 $\mu\text{g/g}$ suché hmotnosti (Bhatia et al. 2013).

Výsledky naší práce ukázaly, že *G. lingzhi* pěstovaná na pilinách listnatých stromů absorbovala nejvíce selenu do plodnic (74,99 µg/g suché hmotnosti) mezi všemi lesklokorkami. Až dvojnásobné hodnoty selenu v plodnicích byly zaznamenány u *L. edodes* pěstované na pilinách listnatých stromů, celkem 143,23 µg/g u pokusu zakládání 13. 07. 2020 a 160,59 µg/g u pokusu založeného 02. 10. 2020. Studie provedená Rzymiski et al. (2016) ukázala, že *G. lucidum* přijímá mnohem vyšší koncentrace selenu než u houby *Hericium erinaceus* nebo *Agrocybe aegerita*.

Potvrdilo se, že zvyšující se koncentrace anorganického selenu začleněná do substrátu byla následovaná zvýšenou koncentrací selenu v plodnicích *G. lucidum* (Niedzielski et al. 2015; Rathore et al. 2018; Rzymiski et al. 2016; Zhou et al. 2018). Tento trend navíc odpovídá i výsledkům naší práce, a to nejen u *G. lucidum*, ale i u ostatních druhů lesklokorek, včetně *L. edodes*. U zinku se tento trend nepotvrdil a jeho obsah byl i po obohacení substrátu síranem zinečnatým konstantní nebo se zvyšoval jen nepatrně. To může být vysvětleno studií od Poursaeid et al. (2015), který naznačil, že schopnost bioakumulace zinku v myceliu je mnohem větší, než v plodnicích.

Obsah selenu v různých částech plodnic *L. edodes* ukázal, že klobouk přijal více selenu než třeně, a to ve všech sledovaných koncentracích. Na to neměl vliv ani termín zakládání pokusů, protože v obou termínech byl obsah selenu vyšší v klobouku této houby. Nejvýraznější rozdíl v obsahu selenu v klobouku a třeních byl pozorován u koncentrací 18 mg Se/kg a 6 mg Se/kg substrátu. Tyto výsledky podporuje Maseko et al. (2013), který uvádí, že klobouky hub obvykle přijímají ze substrátu ochotněji stopové prvky než třeně.

Maseko et al. (2013) naměřil u *A. bisporus* koncentrace selenu v neobohaceném substrátu 12,2 µg Se/g suché hmotnosti v klobouku a 9,6 µg Se/g suché hmotnosti v třeni. Tyto hodnoty jsou mnohonásobně vyšší, než co uvádí Bhatia et al. (2013) a než byly naměřeny v naší práci. U obohaceného substrátu koncentrací seleničitanu sodného 20 mg Se/l došlo ve srovnání s kontrolními variantami k významnému zvýšení obsahu selenu v kloboucích i třeních. V klobouku byla naměřena hodnota 347 µg Se/g suché hmotnosti (Maseko et al. 2013). V naší práci byla nejvyšší získaná hodnota v klobouku u *L. edodes* 160,59 µg Se/g suché hmotnosti. Vyšší hodnota získaná ve studii Maseko et al. (2013) mohla být způsobena druhovou variací hub a odlišnou metodou aplikace seleničitanu sodného do substrátu. Maseko et al. (2013) začal s postupnou aplikací roztoku seleničitanu sodného do substrátu až v momentě, kdy se začaly objevovat malé zárodky plodnic. Roztok seleničitanu sodného připravil v deionizované vodě a dvakrát denně zavlažoval povrch substrátu, dokud plodnice nedosáhly zralosti pro sklizeň. V naší práci byl roztok seleničitanu sodného přidán do substrátu během zakládání pokusu společně se všemi ostatními složkami (Maseko et al. 2013). Ve studii od Zhou et al. (2018) byly naměřeny celkové koncentrace selenu v plodnicích *L. edodes* 5,91–68,21 µg Se/g suché hmotnosti po obohacení substrátu seleničitanem sodným. V případě doplnění substrátu selenanem sodným byly naměřeny koncentrace 3,58–24,63 µg Se/g suché hmotnosti. V naší práci se hodnoty selenu pohybovaly v rozpětí 19,83–190,25 µg Se/g suché hmotnosti po obohacení substrátu seleničitanem sodným. Nižší hodnoty u studie Zhou et al. (2018) mohly být způsobené odlišnou metodou aplikace seleničitanu sodného do substrátu. Roztok seleničitanu sodného byl injektován do substrátu až po jeho plné kolonizaci (3 měsíce po inokulaci) zhruba jeden týden před fruktifikací. Koncentrace selenu v kontrolní skupině ve

studii Zhou et al. (2018) byla v rozmezí 0,12–0,59 $\mu\text{g Se/g}$ a odpovídala naměřeným hodnotám v naší práci.

Nejvyšší nárůst biomasy u submerzní kultivace *G. lucidum* byl zaznamenán při aplikaci seleničitanu sodného v koncentraci 18,75 mg Se/l média. Nejnižší výnos byl naopak naměřen u selenanu sodného při stejné koncentraci. Výsledky ukázaly, že fortifikace média měla pozitivní vliv na nárůst biomasy v porovnání s kontrolní variantou, s výjimkou nejvyšší koncentrace u selenanu sodného. Velez et al. (2019) obohacoval médium pro pěstování houby *P. djamor* selenanem a seleničitanem sodným koncentrací 12,5 mg Se/l. Výsledky jeho práce ukázaly, že médium obohacené seleničitanem sodným snížilo celkový výnos mycelia *P. djamor*, naopak médium obohacené o selenan sodný zvýšilo nárůst biomasy oproti kontrolní variantě. Tyto výsledky jsou, co se týče seleničitanu sodného, v rozporu s výsledky získanými v naší práci. Výtěžek biomasy u kontrolní varianty ve studii Velez et al. (2019) byl výrazně vyšší (přibližně 4 g) ve srovnání s pokusem v naší práci, kde výnos u kontrolní varianty byl pouze $0,29 \pm 0,12$ g. To mohlo být dané odlišným rodem zkoumaných hub a mimo jiné i tím, že Velez et al. (2019) do média začlenil sýrovou syrovátku, která mohla podpořit nárůst biomasy. Navíc pokus ve studii Velez et al. (2019) byl ukončen po 25 dnech a v naší práci po 20 dnech.

V naší práci bylo dosaženo nejvyššího výnosu u houby *L. edodes* pěstované na pilinách listnatých stromů při použití koncentrace 18 mg Se/kg substrátu a velmi podobné hodnoty byly zjištěny u koncentrace 6 mg Se/kg substrátu. Celkový výnos *L. edodes* v naší práci se pohyboval od 151,8 g–247 g/2 kg substrátu. Nižší výnosy v porovnání se substráty připravenými z pilin listnatých stromů ($244,4 \pm 48,5$ g) byly zaznamenány u *Miscanthusu* ($226,75 \pm 10,3$ g) a kukuřičných větven ($192,9 \pm 105,6$ g) v případě obohacení substrátů koncentrací 6 mg Se/kg. Rathore et al. (2018) sledoval výnos *C. indica* pěstované na substrátu složeném z pšeničné slámy obohaceném seleničitanem sodným. Nejvyšší nárůst biomasy zaznamenal u substrátů bez ošetření seleničitanem sodným (546,0 g/750 g substrátu) a dále u koncentrace 2,5 $\mu\text{g Se/ml}$ (550,3 g/750 g substrátu) a 5 $\mu\text{g Se/ml}$ (543,0 g/750 g substrátu). Studie také pozorovala úplnou inhibici růstu při koncentraci seleničitanu sodného 40 $\mu\text{g Se/ml}$ a výtěžek negativně ovlivnila koncentrace vyšší než 5 $\mu\text{g Se/ml}$ (Rathore et al. 2018). Rzymiski et al. (2016) podporuje tvrzení, že čím vyšší byla koncentrace a počet přidaných prvků v substrátu, tím nižší byl výnos biomasy plodnic *G. lucidum*. Bhatia et al. (2013) uvádí, že houby pěstované na fortifikovaných substrátech se nelišily od kontrol, pokud jde o výtěžek vyjádřený jako hmotnost čerstvých hub na blok substrátu. V naší práci pozorujeme opačný trend, pokles výnosu byl pozorován pouze u koncentrace 2 mg Se/kg substrátu, ale u vyšších koncentrací byl zaznamenán nárůst biomasy.

Vieira et al. (2013) ve své studii uvádí, že obohacení substrátu zinkem nevedlo ke změnám v jeho koncentraci v plodnicích. Výsledky studie Gąsecka et al. (2015a) jsou pro *P. eryngii* opačné a je pozorován zvyšující se trend v obsahu zinku v plodnicích. Tyto výsledky mohou být ale ovlivněny interakcí mezi selenem a zinkem, který byl přidán do substrátu v kombinaci právě se zinkem (Gąsecka et al. 2015a). V naší práci nebyl zaznamenán výrazný nárůst koncentrace zinku v plodnicích se zvyšující se koncentrací síranu zinečnatého v substrátu. Nejvyšší množství zinku po obohacení substrátu síranem zinečnatým bylo získáno v plodnicích *G. lucidum* (36,67 $\mu\text{g Zn/g}$ suché hmotnosti). U *G. lingzhi* a *L. edodes* byly pozorovány vyšší koncentrace zinku v plodnicích po fortifikaci substrátu seleničitanem sodným. *L. edodes* pěstovaná na substrátu, jehož hlavní složkou byla kukuřičná větvena, přijala

do svých plodnic 73,42 $\mu\text{g Zn/g}$ suché hmotnosti a ze substrátu složeného z *Miscanthusu* absorbovala do plodnic 65,34 $\mu\text{g Zn/g}$ suché hmotnosti. Z těchto substrátů absorbovala šiitake vyšší množství zinku než ze substrátu složeného z pilin listnatých stromů (58,29 $\mu\text{g Zn/g}$ suché hmotnosti). Navíc *L. edodes* pěstovaná na kukuřičných vřetenech a *Miscanthusu* akumulovala ve svých plodnicích výrazně vyšší množství železa.

7 Závěr

Cílem výzkumu bylo stanovení selenu a zinku v plodnicích kultivovaných hub *Ganoderma adpersum*, *Ganoderma lingzhi*, *Ganoderma lucidum* a *Lentinula edodes* rostoucích na substrátech doplněných anorganickými solemi selenu (Na_2SeO_3 , Na_2SeO_4) a zinku (ZnSO_4). Vypěstované houby obohacené selenem byly poskytnuty firmě Terezia Company s.r.o. pro jejich další využití. Tato firma se zabývá vývojem, výrobou a distribucí doplňků stravy z přírodních surovin.

G. lingzhi přijala nejvíce selenu do plodnic při koncentraci 18 mg Se/kg substrátu, celkem (74,99 $\mu\text{g Se/g}$), tento trend byl pozorován i u ostatních druhů lesklokorek a také u houby šiitake. Suplementace substrátu síranem zinečnatým neměla výrazný vliv na změnu koncentrace zinku v plodnicích.

Pro pěstování hub byly jako hlavní složky substrátu použity piliny listnatých stromů s přísadkou pšeničných otrub (20%), kde bylo dosaženo optimálního prorůstání mycelia. Kukuřičná vřetena použitá pro pěstování šiitake nebyla hodnocena jako vhodný substrát, co se týče příjmu selenu, nicméně šiitake absorbovala ze substrátu značné množství železa a relativně vysoké množství zinku. *Miscanthus* vykazoval nižší hodnoty přijatých prvků, přesto ani tyto hodnoty nejsou zanedbatelné. U obou substrátů však byly výsledné koncentrace selenu v plodnicích nižší než v případě pilin listnatých stromů.

Výsledky naší práce ukázaly, že koncentrace selenu v kloboucích šiitake jsou vyšší než ve třeních, a že termín zakládání pokusu nemá na množství selenu v plodnicích prokazatelný vliv. Nejvyššího výnosu u houby šiitake pěstované na různých substrátech obohacené střední koncentrací (6 mg Se/kg substrátu) seleničitanu sodného bylo dosaženo na pilinách listnatých stromů ($244,4 \pm 48,5 \text{ g}/2,6 \text{ kg}$ substrátu). Nejvyššího výnosu u šiitake bylo dosaženo u nejvyšší koncentrace (18 mg Se/kg substrátu) seleničitanu sodného aplikovaného do substrátu ($247,0 \pm 17,6 \text{ g}/2 \text{ kg}$ substrátu).

Nejvyšší přírůstek biomasy u submerzní kultivace a fortifikace média seleničitanem sodným byl zaznamenán u koncentrace 3,75 mg Se/l média ($0,41 \pm 0,14 \text{ g}$) a u fortifikace média Na_2SeO_4 byl nejvyšší nárůst biomasy zjištěn u koncentrace 18,75 mg Se/l média ($1,35 \pm 0,25 \text{ g}$).

Tato práce demonstruje, že suplementace substrátů anorganickými solemi selenu, na kterých jsou houby kultivované, může být slibnou metodou pro obohacení potravin selenem a využití těchto hub jako doplňků stravy.

8 Literatura

- Ahmad AMR, Ahmed W, Iqbal S, Javed M, Rashid S, Iahtisham-ul-Haq. 2021. Prebiotics and iron bioavailability? Unveiling the hidden association - A review. *Trends in Food Science & Technology* **110**: 584-590.
- Ahmad MF. 2018. *Ganoderma lucidum*: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **107**:507-519.
- Antonyak H, Iskra R, Panas N, Lysiuk R. 2018. Selenium. Pages 63-98 in Malavolta M, Mocchegiani E, editors. *Trace Elements and Minerals in Health and Longevity*. Springer International Publishing AG, Cham.
- Assefa A, Abate D. 2020. Evaluation of nutritional requirements of medicinal fungus, *Pyrofomes demidoffii* under submerged fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **28**.
- Atila F. 2020. Comparative study on the mycelial growth and yield of *Ganoderma lucidum* (Curt: Fr.) Karst. on different lignocellulosic wastes. *Acta Ecologica Sinica* **40**(2):153-157.
- Azizi M, Tavana M, Farsi M, Oroojalian F. 2012. Yield Performance of Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (W.Curt: Fr.) P. Karst. (Higher Basidiomycetes), Using Different Waste Materials as Substrates. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **14**(5):521-527.
- Bhatia P, Aureli F, D'amato M, Prakash R, Cameotra SS, Nagaraja TP, Cubadda F. 2013. Selenium bioaccessibility and speciation in biofortified *Pleurotus* mushrooms grown on selenium-rich agricultural residues. *Food Chemistry* **140**(1-2):225-230.
- Fang Y, Zhang Y, Wang M, Pei F, Xie, Li P, Hu Q. 2018. In vitro bioaccessibility and speciation changes of selenium in *Pleurotus eryngii* during the growing stage. *Food & Function* **9**: 4493-4499.
- Fazenda ML, Seviour R, Mcneil B, Harvey LM. 2008. Submerged Culture Fermentation of "Higher Fungi": The Macrofungi. *Advances in Applied Microbiology* **63**:33-103.
- Friedman M. 2016. Mushroom Polysaccharides: Chemistry and Antiobesity, Antidiabetes, Anticancer, and Antibiotic Properties in Cells, Rodents, and Humans. *Foods* **5**(4).
- Gač 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**.
- Gaitán-Hernández R, Aquino-Bolaños EN, Herrera M, Salmenes D. 2020. Yield, and phenolic content of shiitake mushrooms cultivated on alternative substrates. *Emirates Journal of Food and Agriculture* **32**:188-197.

- Gąsecka M, Mleczek M, Siwulski M, Niedzielski P, Kozak L. 2015b. The effect of selenium on phenolics and flavonoids in selected edible white rot fungi. *LWT - Food Science and Technology* **63**(1):726-731.
- Gąsecka M, Mleczek M, Siwulski M, Niedzielski P. 2015a. Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. *European Food Research and Technology* **242**: 723-732(2016).
- Gerner RR, Nuccio SP, Raffatellu M. 2020. Iron at the host-microbe interface. *Molecular Aspects of Medicine* **75**.
- Grubić-Kezele T. 2018. Iron. Pages 1-34 in Malavolta M, Mocchegiani E, editors. *Trace Elements and Minerals in Health and Longevity*. Springer International Publishing AG, Cham, Switzerland.
- Gukov GV, Komin PA. 2020. Shiitake Mushroom, Japanese fragrant mushroom (*lentinula edodes* (derk.) pegler) in primorski territory: distribution, nutritional and medicinal properties, artificial reproduction, mushroom status. *EurAsian Journal of BioSciences* **14**: 183-189.
- Hayter J, Thomas A. 2021. Investigation and management of anaemia. *Medicine*.
- 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**.
- Hu T, Li H, Zhao G, Guo Y. 2021a. Selenium enriched *Hypsizygus marmoreus*, a potential food supplement with improved Se bioavailability. *LWT - Food Science and Technology* **140**.
- Hu T, Li L, Hui G, Zhang J, Li H, Wu W, Wei X, Guo Y. 2019. Selenium biofortification and its effect on multi-element change in *Auricularia auricular*. *Food Chemistry* **295**:206-213.
- Hu Z, Yao Y, LV M, Zhang Y, Zhang L, Yuan Y, Yue T. 2021b. Isolation and identification of three water-soluble selenoproteins in Se-enriched *Agaricus blazei* Murrill. *Food Chemistry* **344**.
- Chang ST, Miles PG. 2004. *Mushrooms Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact*. CRC Press, New York.
- Chen L, Wang Z, Zhang B, Ge M, Ng H, Niu Y, Liu L. 2019. Production, structure and morphology of exopolysaccharides yielded by submerged fermentation of *Antrodia cinnamomea*. *Carbohydrate Polymers* **205**:271-278.
- Chen N, Zhao Ch, Zhang T. 2021a. Selenium transformation and selenium-rich foods. *Food Bioscience* **40**: 100875.
- Chen Z, Gao H, Wu W, Chen H, Fang X, Han Y, Mu H. 2021b. Effects of fermentation with different microbial species on the umami taste of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *LWT - Food Science and Technology* **141**.

- Chung IM, Kim SY, Han JG, Kong WS, Jung MY, Kim SH. 2020. Fatty Acids and Stable Isotope Ratios in Shiitake Mushrooms (*Lentinula edodes*) Indicate the Origin of the Cultivation Substrate Used: A Preliminary Case Study in Korea. *Foods* **9**(9).
- Izydorczyk G, Ligas B, Mikula K, Witek-Krowiak A, Moustakas K, Chojnacka K. 2021. Biofortification of edible plants with selenium and iodine – A systematic literature review. *Science of The Total Environment* **754**.
- Jablonský I, Šašek V, Koudela M. 2019. Jedlé a léčivé houby a jak je pěstovat. Profi Press, Praha.
- Jandová D. 2019. Stopové prvky, jejich funkce v organismu a výskyt v přírodních léčivých minerálních vodách. Pages 13-25 in Trískala Z, Jandová D, Kolářová J, Nečasová Šašková D, Knára P, Hnátek J, Mareš J, editors. *Medicína přírodních léčivých zdrojů: Minerální vody*. Grada Publishing a.s., Praha.
- Jothimani D, et al. 2020. COVID-19: Poor outcomes in patients with zinc deficiency. *International Journal of Infectious Diseases* **100**:343-349
- Kalač P. 2019. Mineral composition and radioactivity of edible mushrooms. Elsevier Science & Technology, San Diego, United States.
- Kaleta B, Górski A, Zagożdżon R, Cieślak M, Kaźmierczak-Barańska J, Nawrot B, Klimaszewska M, Malinowska E, Górská S, Turło J. 2019. Selenium-containing polysaccharides from *Lentinula edodes*—Biological activity. *Carbohydrate Polymers* **223**.
- Kimmons TE, Phillips M, Brauer D. 2010. Effects of Management Factors on the Concentration of a High Molecular Weight Polysaccharide Fraction from Log-Grown Shiitake Mushrooms (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**(7):4331-4335.
- Kobayashi T, Oguro M, Akiba M, Taki H, Kitajima H, Ishihara H. 2020. Mushroom yield of cultivated shiitake (*Lentinula edodes*) and fungal communities in logs. *Journal of Forest Research* **25**(4):269-275.
- Li J, Gu F, Cai CH, Hu M, Fan L, Hao J, Yu G. 2020. Purification, structural characterization, and immunomodulatory activity of the polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Biological Macromolecules* **143**:806-813.
- Liang CH, Tian D, Liu Y, Li H, Zhu J, Li M, Xin M, Xia J. 2019. Review of the molecular mechanisms of *Ganoderma lucidum* triterpenoids: Ganoderic acids A, C2, D, F, DM, X and Y. *European Journal of Medicinal Chemistry* **174**:130-141.
- Lisiecka J, Rogalski J, Sobieralski K, Siwulski M, Sokół S, Ohga S. 2015. Mycelium Growth and Biological Efficiency of *Ganoderma lucidum* on Substrate Supplemented with Different Organic Additives. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University* **60**(2):303-308.

- Liu Y, Luo M, Liu F, Feng X, Ibrahim SA, Cheng L, Huang W. 2020. Effects of freeze drying and hot-air drying on the physicochemical properties and bioactivities of polysaccharides from *Lentinula edodes*. *International Journal of Biological Macromolecules* **145**:476-483.
- Lu J, He R, Sun P, Zhang F, Linhardt RJ, Zhang A. 2020. Molecular mechanisms of bioactive polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (Lingzhi), a review. *International Journal of Biological Macromolecules* **150**:765-774.
- Maseko T, Callahan DL, Dunshea FR, Doronila A, Spas D, Kolev SD, NG K. 2013. Chemical characterisation and speciation of organic selenium in cultivated selenium-enriched *Agaricus bisporus*. *Food Chemistry* **141**(4): 3681-3687.
- Montoya S, Sánchez ÓJ, Arias DF. 2020. Solid State Cultivation of *Grifola frondosa* and *Ganoderma Lucidum*: Technology, Research and Possibilities for Waste Utilization in Tropical Weathers. Nova Science Publishers, Inc, New York.
- Morales D, Rutkevicki R, Villalva M, Abreu H, Soler-Rivas C, Santoyo S, Iacomini M, Smiderle FR. 2020. Isolation and comparison of α - and β -D-glucans from shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) with different biological activities. *Carbohydrate Polymers* **229**.
- Morales D, Smiderle FR, Piris AJ, Soler-Rivas C, Prodanov M. 2019. Production of a β -d-glucan-rich extract from Shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) by an extraction/microfiltration/reverse osmosis (nanofiltration) process. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **51**:80-90.
- Muszyńska B, Zajac 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.
- Niedzielski P, Mleczek M, Siwulski M, Rzymiski P, Gąsecka M, Kozak L. 2015. Supplementation of cultivated mushroom species with selenium: bioaccumulation and speciation study. *European Food Research and Technology* **241**(3): 419-426.
- Osuna-Padilla IA, et al. 2020. Zinc and selenium indicators and their relation to immunologic and metabolic parameters in male patients with human immunodeficiency virus. *Nutrition* **70**.
- Pasricha SR, Tye-Din J, Muckenthaler MU, Swinkels DW. 2021. Iron deficiency. *The Lancet* **397**(10270): 233-248.
- Postemsky PD, Bidegain MA, González-Matute R, Figlas ND, Cubitto MA. 2017. Pilot-scale bioconversion of rice and sunflower agro-residues into medicinal mushrooms and laccase enzymes through solid-state fermentation with *Ganoderma lucidum*. *Bioresource Technology* **231**:85-93.

- 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**(7):3387-3396.
- Prasad AS. 2020. Clinical and immunological effects and biomarkers of zinc deficiency. Pages 3-30 in Brewer GJ, Prasad AS, editors. *Essential and Toxic Trace Elements and Vitamins in Human Health*. Academic Press, US.
- Przybylowicz P, Donoghue J. 1988. *Shiitake Growers Handbook: The Art and Science of Mushroom Cultivation*. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque.
- Puntarulo S. 2005. Iron, oxidative stress and human health. *Molecular Aspects of Medicine* **26**(4-5): 299-312.
- Rajesh K, Dhanasekaran D. 2015. Ganoderma: A bioresource of antimicrobials. Pages 189-203 in Dhanasekaran D, Thajiddin N, Panneerselvam A, editors. *Antimicrobials: Synthetic and Natural Compounds*. CRC Press, Taylor & Francis, New York.
- Rashad FM, Kattan MHE, Fathy HM, El-Fattah DAA, Tohamy ME, Farahat AA. 2019. Recycling of agro-wastes for *Ganoderma lucidum* mushroom production and Ganoderma post mushroom substrate as soil amendment. *Waste Management* **88**:147-159.
- Rathore H, Sharma A, Prasad S, Sharma S. 2018. Selenium bioaccumulation and associated nutraceutical properties in *Calocybe indica* mushroom cultivated on Se-enriched wheat straw. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **126**(4):482-487.
- Rayman M. 2017. Selenium Intake And Status In Health & Disease. *Free Radical Biology and Medicine* **112**.
- Ren L, Zhang J, Zhang T. 2021. Immunomodulatory activities of polysaccharides from *Ganoderma* on immune effector cells. *Food Chemistry* **340**.
- Rosenkranz E, Prasad A, Rink, L. 2011. Immunobiology and Hematology of Zinc. Pages 195-233 in Rink L, editor. *Zinc in Human Health*. IOS Press BV, Amsterdam.
- Royse DJ, Baars J, Tan Q. 2017. Current Overview of Mushroom Production in the World. Pages 5-12 in Zied DC, Pardo-Giménez A, editors. *Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications*. John Wiley & Sons Ltd, United States.
- Royse DJ, Sanchez JE. 2007. Ground wheat straw as a substitute for portions of oak wood chips used in shiitake (*Lentinula edodes*) substrate formulae. *Bioresource Technology* **98**(11):2137-2141.
- Ryu DH, et al. 2021. Optimization of antioxidant, anti-diabetic, and anti-inflammatory activities and ganoderic acid content of differentially dried *Ganoderma lucidum* using response surface methodology. *Food Chemistry* **335**.

- Rzymiski P, Mleczek M, Niedzielski P, Siwulski M, Gąsecka M. 2016. Potential of Cultivated *Ganoderma lucidum* Mushrooms for the Production of Supplements Enriched with Essential Elements. *Journal of Food Science* **81**(3): C587-C592.-462.
- Salvatore MM, Elvetico A, Gallo M, Salvatore F, Dellagreca M, Naviglio D, Andolfi A. 2020. Fatty Acids from *Ganoderma lucidum* Spores: Extraction, Identification and Quantification. *Applied Sciences* **10**(11).
- Sánchez-Minutti L, López-Valdez F, Rosales-Pérez M, Luna-Suárez S. 2019. Effect of heat treatments of *Lentinula edodes* mushroom on eritadenine concentration. *LWT - Food Science and Technology* **102**:364-371.
- Santos H, Filipe O, Teixeira J, Schoenfeld BJ. 2020. Dietary vs. pharmacological doses of zinc: A clinical review. *Clinical Nutrition* **39**(5):1345-1353.
- Santosh LS, Gordeuk VR. 2020. Iron. Pages 83-102 in Brewer GJ, Prasad AS, editors. *Essential and Toxic Trace Elements and Vitamins in Human Health*. Academic Press, US.
- Sharma Ch, Bhardwaj N, Sharma A, Tuli HS, Batra P, Beniwal V, Gupta GK, Sharma AK. 2019. Bioactive metabolites of *Ganoderma lucidum*: Factors, mechanism and broad spectrum therapeutic potential. *Journal of Herbal Medicine* **17-18**.
- Shu Y, WU M, Yang S, Wang Y, Li H. 2020. Association of dietary selenium intake with telomere length in middle-aged and older adults. *Clinical Nutrition* **39**(10):3086-3091.
- Sliva D. 2009. Medicinal Potential of *Ganoderma lucidum*. Pages 173-196 in Rai M, Bridge PD, editors. 2009. *Applied Mycology*. CABI, UK.
- 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.
- Trame S, Wessels I, Haase H, Rink L. 2018. A short 18 items food frequency questionnaire biochemically validated to estimate zinc status in humans. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **49**:285-295.
- Turło J, Gutkowska B, Herold F. 2010. Effect of selenium enrichment on antioxidant activities and chemical composition of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. mycelial extracts. *Food and Chemical Toxicology* **48**(4):1085-1091.
- Velez MEV, da Luz JMR, da Silva MdCS, Cardoso WS, Lopes LdS, Vieira NA, Kasuya MCM. 2019. Production of bioactive compounds by the mycelial growth of *Pleurotus djamor* in whey powder enriched with selenium. *LWT - Food Science and Technology* **114**.
- Vunduk J, Wan-Mohtar WAAQI, Mohamad SA, Abd Halim NH, Mohd Dzomir AZ, Žižak Ž, Klaus A. 2019. Polysaccharides of *Pleurotus flabellatus* strain Mynuk produced by submerged fermentation as a promising novel tool against adhesion and biofilm formation of foodborne pathogens. *LWT - Food Science and Technology* **112**.

- Wachtel-Galor S, Yuen J, Buswell JA, Benzie IFF. 2011. *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi): A Medicinal Mushroom. Pages 175-192 in Benzie IFF, Wachtel-Galor S, Packer L, editors. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*, Second Edition. CRC Press, Taylor & Francis, New York.
- Wang J, Zhou Z, Dan D, Hu G. 2020. Physicochemical properties and bioactivities of *Lentinula edodes* polysaccharides at different development stages. *International Journal of Biological Macromolecules* **150**:573-577.
- Wasser SP. 2004. Shiitake (*Lentinula edodes*). Pages 653-664 in Coates PM, Betz JM, Blackman MR, Cragg GM, Levine M, Moss J, White JD, editors. *Encyclopedia of Dietary Supplements*. Informa Healthcare, New York.
- Xu P, Ding ZY, Qian Z, Zhao CX, Zhang KC. 2008. Improved production of mycelial biomass and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum* SB97 using complex media. *Enzyme and Microbial Technology* **42**(4):325-331.
- Zhang Y, Li S, Wang X, Zhang L, Cheung PCK. 2011. Advances in lentinan: Isolation, structure, chain conformation and bioactivities. *Food Hydrocolloids* **25**(2):196-206.
- Zheng L, et al. 2020. Distribution of Zinc in Mycelial Cells and Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Mycelia Zinc Polysaccharides from *Thelephora ganbajun* TG-01. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2020**:1-17.
- Zhou D, Xiao Y, Wu H. 2021. Selenium accumulation, speciation, and its effect on nutritive value of *Flammulina velutipes* (Golden needle mushroom). *Food Chemistry* **350**: 128667.
- Zhou F, Yang W, Wang M, Miao Y, Cui Z, Li Z, Liang D. 2018. Effects of selenium application on Se content and speciation in *Lentinula edodes*. *Food Chemistry* **265**:182-188.
- Zhou JS, Ji SL, Ren MF, He YL, Jing XR, Xu JW. 2014. Enhanced accumulation of individual ganoderic acids in a submerged culture of *Ganoderma lucidum* by the overexpression of squalene synthase gene. *Biochemical Engineering Journal*. **90**:178-183.
- Zhou LD, Zhang QH, Zhang Y, Liu J, Cao YM. 2009. The shiitake mushroom-derived immunostimulant lentinan protects against murine malaria blood-stage infection by evoking adaptive immune-responses. *International Immunopharmacology* **9**(4):455-462.
- Zhou XW. 2017. Cultivation of *Ganoderma lucidum*. Pages 385-414 in Zied DC, Pardo-Giménez A, editors. *Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications*. John Wiley & Sons Ltd, United States.
- 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**(4).

9 Samostatné přílohy

Pokus č. 1 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *G. adpersum* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Se	0,06	6,39	17,83	53,21
Zn	13,77	12,94	15,12	14,55
Fe	10,98	10,96	15,32	14,63

Pokus č. 1 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *G. lingzhi* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Se	0,20	11,31	33,40	74,99
Zn	42,62	45,20	37,64	31,97
Fe	25,34	22,83	29,97	9,95

Pokus č. 1 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *L. edodes* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃ (celé plodnice)

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Se	0,27	19,83	58,93	143,23
Zn	57,06	55,43	53,05	55,54
Fe	26,89	25,54	25,23	31,42

Pokus č. 1 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *L. edodes* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃ (třeň)

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Se	0,23	13,83	37,81	91,51
Zn	35,98	38,21	26,28	35,58
Fe	11,00	21,05	11,06	20,03

Pokus č. 1 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *L. edodes* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃ (klobouk)

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Se	0,31	19,26	68,88	160,59
Zn	74,16	58,61	46,98	60,99
Fe	30,38	27,69	23,51	41,15

Pokus č. 2 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *G. lucidum* pěstovanou na kukuřičném substrátu obohaceném Na₂SeO₃

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Se	0,06	2,52	8,91	25,41
Zn	29,33	34,01	31,26	32,89
Fe	11,56	25,74	17,86	16,43

Pokus č. 2 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *G. lucidum* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném ZnSO₄

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	10 (mg/kg)	20 (mg/kg)	40 (mg/kg)
Se	0,13	0,28	0,08	0,10
Zn	22,96	23,47	27,60	36,67
Fe	13,53	20,81	13,13	19,07

Pokus č. 3 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *G. lucidum* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném ZnSO₄

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	10 (mg/kg)	20 (mg/kg)	40 (mg/kg)
Se	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,06 ± 0,04	0,03 ± 0,00
Zn	16,84 ± 1,59	25,07 ± 2,34	34,74 ± 0,40	34,39 ± 0,76
Fe	22,85 ± 3,76	31,05 ± 11,94	22,71 ± 0,32	23,29 ± 0,61

Hodnoty průměrů (n = 3) ± SD

Pokus č. 3 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *G. lingzhi* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném ZnSO₄

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	10 (mg/kg)	20 (mg/kg)	40 (mg/kg)
Se	0,02 ± 0,00	0,06 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00
Zn	10,93 ± 0,30	22,10 ± 0,44	11,42 ± 1,06	12,74 ± 0,53
Fe	13,63 ± 3,38	12,96 ± 1,15	16,99 ± 4,68	11,65 ± 0,09

Hodnoty průměrů (n = 3) ± SD

Pokus č. 4 – Přírůstek biomasy *G. lucidum* pěstované submerzní technologií na živném médiu obohaceném Na₂SeO₃

Suchá biomasa (g)	Kontrola	0,03 (mg/L)	0,15 (mg/L)	0,75 (mg/L)	3,75 (mg/L)	18,75 (mg/L)
A	0,4	0,45	0,47	0,57	0,68	1,2
B	0,17	0,33	0,42	0,68	0,5	1,64
C	0,29	0,63	0,29	0,79	0,7	1,2
Průměr ± SD	0,29 ± 0,12	0,47 ± 0,15	0,39 ± 0,09	0,68 ± 0,11	0,63 ± 0,11	1,35 ± 0,25

Pokus č. 4 – Přírůstek biomasy *G. lucidum* pěstované submerzní technologií na živném médiu obohaceném Na₂SeO₄

Suchá biomasa (g)	Kontrola	0,03 (mg/L)	0,15 (mg/L)	0,75 (mg/L)	3,75 (mg/L)	18,75 (mg/L)
A	0,4	0,37	0,32	0,33	0,53	0,06
B	0,17	0,38	0,28	0,3	0,26	0,04
C	0,285	0,38	0,52	0,52	0,45	0,12
Průměr ± SD	0,29 ± 0,12	0,38 ± 0,01	0,37 ± 0,13	0,38 ± 0,12	0,41 ± 0,14	0,07 ± 0,04

Pokus č. 5 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *L. edodes* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃ (celé plodnice)

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Se	0,26	25,12	66,61	190,25
Zn	66,32	62,26	57,55	69,00
Fe	23,09	27,08	20,11	35,72

Pokus č. 5 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *L. edodes* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃ (třeň)

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Se	0,14	18,60	50,91	144,86
Zn	40,91	43,34	36,66	35,40
Fe	10,31	17,10	18,59	20,58

Pokus č. 5 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *L. edodes* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃ (klobouk)

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Se	0,23	22,90	79,14	157,82
Zn	54,34	62,14	57,07	40,90
Fe	15,10	37,63	24,81	23,79

Pokus č. 5 – Výnos *L. edodes* pěstované na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃

Výnos (g)	Kontrola	2 (mg/kg)	6 (mg/kg)	18 (mg/kg)
Blok 1	271,1	232,2	248,0	222,5
Blok 2	183,8	147,3	291,0	250,0
Blok 3	122,9	103,0	194,2	251,0
Blok 4	×	124,6	×	264,5
Průměr ± SD	192,6 ± 74,5	151,8 ± 56,6	244,4 ± 48,5	247,0 ± 17,6

Pokus č. 6 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *L. edodes* pěstovanou na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃ (6 mg/kg)

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Třeň	Klobouk	Celé plodnice
Se	57,72	76,89	64,72
Zn	37,52	57,07	58,29
Fe	17,02	26,77	22,09

Pokus č. 6 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *L. edodes* pěstovanou na substrátu složeného z *Miscanthusu* obohaceném Na₂SeO₃ (6 mg/kg)

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Třeň	Klobouk	Celé plodnice
Se	33,53	61,47	42,81
Zn	50,22	75,47	65,34
Fe	14,46	33,47	23,64

Pokus č. 6 – Obsah Se, Zn, Fe v plodnicích *L. edodes* pěstovanou na kukuřičném substrátu obohaceném Na₂SeO₃ (6 mg/kg)

Koncentrace Se/Zn/Fe v plodnicích (µg/g)	Třeň	Klobouk	Celé plodnice
Se	21,37	32,31	31,81
Zn	49,16	75,88	73,42
Fe	28,09	49,97	60,89

Pokus č. 6 – Výnos *L. edodes* pěstované na pilinovém substrátu obohaceném Na₂SeO₃ (6 mg/kg)

Výnos (g)	Piliny listnatých stromů	<i>Miscanthus</i>	Kukuřičná vřetena
Blok 1	248,0	234,0	267,5
Blok 2	291,0	219,5	118,2
Blok 3	194,2	×	×
Průměr ± SD	244,4 ± 48,5	226,75 ± 10,3	192,9 ± 105,6



Obrázek 2: *L. edodes* před sklizní – pokus č. 1 (Zdroj: Ivan Jablonský, 2020)



Obrázek č. 1: *L. edodes* před sklizní – pokus č. 5 (Zdroj: Ivan Jablonský, 2021)



Obrázek 3: *G. lingzhi* před sklizní – pokus č. 1 (Ivan Jablonský, 2020)



Obrázek 4: *G. lucidum* před sklizní – pokus č. 3 (Vlastní fotografie, 2020)