

# Utjecaj sastava tla na sadržaj teških metala (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl) na plodištu tartuta

---

**Blažević, Antonela**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:661779>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-28**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Geološki odsjek

Antonela Blažević

**Utjecaj sastava tla na sadržaj teških metala (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl)  
u plodištu tartufa**

Diplomski rad

Zagreb, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
GEOLOŠKI ODSJEK

Antonela Blažević

**Utjecaj sastava tla na sadržaj teških metala (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl)  
u plodištu tartufa**

Diplomski rad  
predložen Geološkom odsjeku  
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta  
Sveučilišta u Zagrebu  
radi stjecanja akademskog stupnja  
magistra struke Znanosti o okolišu

Mentori:

doc. dr. sc. Hana Fajković i doc. dr. sc. Željka Fiket

Zagreb, 2022.

UNIVERSITY OF ZAGREB  
FACULTY OF SCIENCE  
DEPARTMENT OF GEOLOGY

Antonela Blažević

**Influence of soil composition on the content of heavy metals (Bi, Cd, Co, Cr,  
Ni, Pb, Sn i Tl) in the fruiting body of truffles**

Master thesis  
submitted to Department of Geology  
Faculty of Science  
University of Zagreb  
for the degree of  
University graduate of Environmental sciences

Supervisors:  
doc. dr. sc. Hana Fajković and doc. dr. sc. Željka Fiket

Zagreb, 2022.

## *Zahvale*

*Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Hani Fajković na susretljivosti i suradnji prilikom izrade ovog rada.*

*Zahvaljujem komentorici doc. dr. sc. Željki Fiket na savjetima, komentarima te velikoj podršci i pomoći tijekom laboratorijske izrade i tijekom pisanja ovog rada.*

*Hvala mojim roditeljima, teti, baki i djedu na bezuvjetnoj podršci, ljubavi i ponosu.*

*Hvala i mojim prijateljima i kolegama koji su me podržavali i zbog kojih je studiranje bilo ugodnije, a studentski dani su brže prolazili.*

Ovaj rad je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost projektima ForFungiDNA (IP-2018-01-1736) i FORtIS (IP-2019-04-9354).

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Geološki odsjek

Diplomski rad

## Utjecaj sastava tla na sadržaj teških metala (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl) u plodištu tartufa

Antonela Blažević

**Rad je izrađen u:** Geološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb i Laboratorij za anorgansku geokemiju okoliša i kemo-dinamiku nanočestica, Zavod za istraživanje mora i okoliša, Institut Ruđer Bošković u sklopu studija Znanosti o okolišu

**Sažetak:** U ovom radu određene su ukupne koncentracije 8 teških metala (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn and Tl) u uzorcima dvije vrste tartufa, uzorcima tla i kore drveta. Za potrebe istraživanja uzeto je 7 uzoraka vrste *Tuber aestivum* i 7 uzoraka vrste *Tuber melanosporum* te uzorci tla i kore obližnjih stabala, s ukupno 12 lokaliteta i 6 različitih tipova staništa na području Republike Hrvatske. Svim uzorcima su laboratorijski određene ukupne koncentracije metala multielementnom analizom. Dobivene koncentracije statistički su obrađene, izračunati su bioakumulacijski faktori (BAF) za uzorke tartufa te su izračunati geoakumulacijski indeksi ( $I_{geo}$ ) i indeksi zagađenja tla (PI) za uzorke tla. Dobiveni rezultati ukazuju na povećane vrijednosti bioakumulacijskih faktora za Cd za gotovo sve uzorke tartufa, kao i najveće vrijednosti geoakumulacijskih indeksa i indeksa zagađenja tla za gotovo sve uzorke tla.

**Ključne riječi:** teški metali, multielementna analiza, bioakumulacijski faktor (BAF), geoakumulacijski indeks ( $I_{geo}$ ), indeks zagađenja tla (PI), tartufi

**Rad sadrži:** 36+VI stranica, 1 sliku, 11 tablica, 38 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je pohranjen u:** Središnja biološka knjižnica, Biološki odsjek, PMF, Zagreb

**Mentori:** doc. dr. sc. Hana Fajković, PMF, Zagreb

doc. dr. sc. Željka Fiket, IRB, Zagreb

**Ocjenjivači:** doc. dr. sc. Hana Fajković, PMF, Zagreb

doc. dr. sc. Željka Fiket, IRB, Zagreb

doc. dr. sc. Mladen Maradin, PMF, Zagreb

prof. dr. sc. Sven Jelaska, PMF, Zagreb

**Datum završnog ispita:** 23.9.2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Geology

Graduate Thesis

### **Influence of soil composition on the content of heavy metals (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn and Tl) in the fruiting body of truffles**

Antonela Blažević

**Thesis completed in:** Department of Geology, Faculty of Science, University of Zagreb, and Laboratory for inorganic environmental geochemistry and chemodynamics of nanoparticles, Division for Marine and Environmental Research, Ruđer Bošković Institute

**Abstract:** In this paper, total concentrations of 8 heavy metals (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn and Tl) in two truffle species, soil and wood bark samples were determined. For this research, 7 samples of *Tuber aestivum* and 7 samples of *Tuber melanosporum*, as well as soil samples and adjacent wood bark samples from 12 locations and 6 different types of habitats were collected. Total concentrations for each sample of mentioned heavy metals were determined using multi-element analysis and were further statistically processed. Bioaccumulation factor (BAF) was calculated for truffle samples, while for soil samples were geoaccumulation index ( $I_{geo}$ ) and single pollution index (PI) calculated. Results showed elevated bioaccumulation factors for almost all of truffle samples of Cd, as well as elevated geoaccumulation index and elevated single pollution index of Cd for almost all of soil samples.

**Keywords:** heavy metals, multi-element analysis, bioaccumulation factor (BAF), geoaccumulation index ( $I_{geo}$ ), single pollution index (PI), truffles

**Thesis contains:** 36+VI pages, 1 figure, 11 tables, 38 references

**Original in:** Croatian

**Thesis deposited in:** Central biological library, Faculty of Science, University of Zagreb

**Supervisors:** doc. dr. sc. Hana Fajković, Faculty of Science, Zagreb  
doc. dr. sc. Željka Fiket, Ruđer Bošković Institute, Zagreb

**Reviewers:** doc. dr. sc. Hana Fajković, Faculty of Science, Zagreb  
doc. dr. sc. Željka Fiket, Ruđer Bošković Institute, Zagreb  
doc. dr. sc. Mladen Maradin, Faculty of Science, Zagreb  
prof. dr. sc. Sven Jelaska, Faculty of Science, Zagreb

**Date of the final exam:** 23.9.2022.

**SADRŽAJ**

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA</b> .....	3
2.1. Biologija i ekologija tartufa te rasprostranjenost tartufa .....	3
2.1.1. Značajke crnog tamnospornog tartufa ( <i>Tuber melanosporum</i> ) .....	4
2.1.2. Značajke ljetnog tartufa ( <i>Tuber aestivum</i> ) .....	5
2.2. Biokemijske značajke tartufa .....	6
2.3. Biokemijske interakcije u sustavu tlo-drvo-tartuf .....	7
2.4. Utjecaj svojstava i sastava supstrata na razvoj gljiva .....	8
2.5. Akumulacija metala u gljivama .....	9
2.6. Procjena utjecaja na zdravlje .....	11
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	12
3.1. Uzorkovanje i područje istraživanja .....	12
3.2. Priprema uzoraka za multielementnu analizu .....	14
3.3. Multielementna analiza uzoraka .....	14
3.4. Statistički parametri .....	15
<b>4. REZULTATI</b> .....	16
4.1. Ukupne koncentracije elemenata u uzorcima tla .....	16
4.2. Ukupne koncentracije elemenata u uzorcima tartufa .....	18
4.3. Ukupne koncentracije elemenata u uzorcima kore drveta .....	20
4.4. Bioakumulacijski faktor .....	22
4.5. Geoakumulacijski indeks i Indeks zagađenja tla .....	24
<b>5. DISKUSIJA</b> .....	28
5.1. Ukupna koncentracija elemenata u prikupljenim uzorcima .....	28
5.2. Bioakumulacijski faktor .....	29
5.3. Geoakumulacijski indeks .....	30
5.4. Indeks zagađenja tla .....	31
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	32
<b>7. LITERATURA</b> .....	33



## 1. UVOD

Carstvo gljiva odlikuje se velikom raznolikošću vrsta, imaju ključnu ulogu u funkcioniranju ekosustava i ekonomski su značajna skupina zbog primjene u prehrani (Bonet i sur., 2020). Pretpostavlja se da u svijetu postoji oko milijun i petsto tisuća vrsta gljiva, ali je do sad opisano od 80 do 120 tisuća vrsta, što ukazuje na slabo istraživanje ovog značajnog carstva (Webster i Weber, 2007).

Gljive su u interakciji s mnogim biotičkim i abiotičkim procesima u ekosustavu te njihova fiziologija utječe na okoliš, procese i na zdravlje čovjeka. Također su značajne u kruženju elemenata u prirodi i u vezanju nutrijenata čime utječu na fizikalno-kemijska svojstva okoliša. Svojim metabolizmom gljive pomažu pri bioremedijaciji teških metala i onečišćivača u okolišu. Prema navedenim značajkama gljiva može se zaključiti da su gljive vrlo važan dio ekosustava i imaju veliki značaj za ljude te je zato potrebno veću pažnju posvetiti ovom carstvu (Walker i White, 2021).

Veliki broj vrsta gljiva stvara plodišta pod zemljom i takvi organizmi se smatraju tartufima u širem smislu tog pojma. Zato postoji podjela na prave tartufe, što se odnosi na vrste unutar roda *Tuber*, i na pustinjske tartufe, odnosno vrste slične tartufima koje su rasprostranjene na sušnim područjima (Leonardi i sur., 2021). Smatra se da su pojedine vrste gljiva stvorile podzemna plodišta kao prilagodbu na sušna razdoblja, ekstremne temperature i zaštitu od životinja koje se hrane gljivama (Webster i Weber, 2007; Leonardi i sur., 2021).

Tartufi su organizmi koji se nalaze na šumskim područjima, jer su vezani uz rast i razvoj drveća. Tartufi su s drvećem u mutualističkom odnosu poznatom kao mikoriza, što se definira kao suživot gljiva s korijenjem drveća i drugih biljaka. U toj simbiozi tartufi opskrbljuju biljke anorganskim tvarima i vodom, a biljke tartufima prenose organske tvari. Upravo zato je važna zajednica tlo-drvo-tartuf, jer tartufi u najvećoj mjeri nastanjuju površinske slojeve tla i razvijaju se na korijenu drveća. Ovisno o simbiozi s drvećem i svojstvima tla, tartufi razvijaju različita plodišta (Tikvić i sur., 2017).

U svom radu Chauhan i sur. (2021) navode da su pustinjski tartufi bogati fosforom, fosfatima i povećanim koncentracijama željeza što je povezano sa svojstvima tla. Također na kemijski sastav tartufa utječu i mikroorganizmi, poput bakterija, kvasca i virusa, koji su usko povezani sa svim razvojnim stadijima tartufa (Chauhan i sur., 2021).

Istraživanja i znanja o vrstama gljiva nisu podjednaka, jer nije poznata točna rasprostranjenost pojedinih vrsta, niti njihova ugroženost (Bonet i sur., 2020). Isto tako Bonet i

sur. (2020) navode kako interakcije između gljiva i biotičkih te abiotičkih faktora nisu u potpunosti poznate, kao ni utjecaj čovjeka i klimatskih promjena na gljive.

Neke od osnovnih značajki tartufa dobro su istražene budući da se tartufi koriste u prehrani (Webster i Weber, 2007), dok detaljnijih istraživanja o biokemijskom sastavu i povezanosti kemijskog sastava s okolišem ima relativno malo (Chauhan i sur., 2021).

Osim što se tartufi u svijetu smatraju delicijom visoke nutritivne vrijednosti, značajni su i zbog antioksidativnih, protuupalnih, antibakterijskih i antivirusnih svojstava te zaštite od raznih bolesti jetre (Wang i Marcone, 2011; Chauhan i sur., 2021).

Cilj ovog rada je odrediti ukupne koncentracije bizmuta, kadmija, kobalta, kroma, nikla, olova, kositra i talija u uzorcima dvije vrste tartufa, *Tuber aestivum* i *Tuber melanosporum*, pripadajućim tlima i kori najbližeg stabla te vrijednosti pH tla. Svrha rada je: i) odrediti razine teških metala u istraženim vrstama tartufa i njihovu prostornu raspodjelu, ii) odrediti utjecaj tla na koncentracije Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb Sb i Tl u tartufima, iii) istražiti moguće razlike između *Tuber aestivum* i *Tuber melanosporum* s obzirom na akumulaciju navedenih teških metala.

## 2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 2.1. Biologija i ekologija tartufa te rasprostranjenost tartufa

Unutar carstva gljiva najveće koljeno prema brojnosti vrsta su gljive mješinarke (lat. *Ascomycota*) koje sadrže plodište okruženo hifama zvano askokarp (Webster i Weber, 2007). Koljeno *Ascomycota* sadrži red *Pezizales* unutar kojeg je, uz druge porodice, smještena porodica tartufa (lat. *Tuberaceae*) (Webster i Weber, 2007; Leonardi i sur., 2021). Većina vrsta unutar reda *Pezizales* tvore epigejna plodišta, odnosno plodišta iznad tla i njihove spore raznose se vjetrom. Kod porodice tartufa plodišta su hipogejna, odnosno nalaze se u tlu i raznošenje spora u ovom slučaju ovisno je o životinjama koje se hrane zrelim askokarpom zbog proizvodnje karakterističnog mirisa (Webster i Weber, 2007, Leonardi i sur., 2021).

Porodica *Tuberaceae* smatra se jednom od najraznolikijih prema karakteristikama i brojnosti vrsta (Bonito i sur., 2013). Procjenjuje se da rod *Tuber* sadrži oko 180 vrsta te je stoga najbrojniji rod u odnosu na ostala četiri roda unutar porodice *Tuberaceae* (Bonito i sur., 2013; Leonardi i sur., 2021).

Hipogejna plodišta tartufa sadrže veliki broj spora koje nastaju u globularnim do subglobularnim askusima (Webster i Weber, 2007; Bonito i sur., 2013). Osim askusa, u plodištima se nalaze sterilna trakasta tkiva koja su ispunjena hifama i zrakom te tartufima daju karakterističan isprugani izgled (Webster i Weber, 2007; Bonito i sur., 2013).

Askokarp tartufa razlikuje se veličinom i brojem askospora, može biti različitih boja i izgleda. Najčešća veličina askokarpa je od 1 do 8 centimetra u promjeru, a u prosjeku tartufi sadrže od 1 do 8 askospora (Webster i Weber, 2007; Širić i Širol, 2019).

Unutrašnji dio askokarpa sastoji se od fertilnog sloja zvanog gleba, koji može biti bijele, žućkastobijele, svjetlosmeđe, tamnosmeđe, sive i crne boje te je taj sloj išaran prethodno spomenutim trakastim sterilnim tkivima (Webster i Weber, 2007; Širić i Širol, 2019). Izgled unutrašnjeg dijela askokarpa ovisi o vrsti tartufa, stupnju razvoja i o vrsti biljke s kojom je u mikorizi (Širić i Širol, 2019). Vanjski sloj tartufa obavijen je pokožicom, koja može biti glatka ili bradavičasta te može biti tamne ili svijetle boje (Širić i Širol, 2019). Prema vanjskom izgledu i boji tartufi se najčešće dijele na crne i bijele (Širić i Širol, 2019; Leonardi i sur., 2021).

U posljednja dva desetljeća intenzivnije se provode istraživanja u pogledu ekološkog značaja, raznolikosti i biokemijskih značajki tartufa (Leonardi i sur., 2021). Točna rasprostranjenost tartufa nije sasvim poznata zbog karakterističnog podzemnog rasta (Tikvić i sur., 2017). No, poznato je da su tartufi rasprostranjeni diljem svijeta i da su česti stanovnici

kopnenih ekosustava, kako prirodnih tako i urbanih (Leonardi i sur., 2021). Rasprostranjenost tartufa ovisi o vrstama biljaka s kojim su u simbiozi, a ne ovisi nužno o visini, niti o tipu reljefa (Tikvić i sur., 2017). Najvažnije vrste drveća s kojima su tartufi u simbiozi su hrast kitnjak, hrast lužnjak i hrast medunac (Tikvić i sur., 2017).

Na rast i razvoj tartufa utječu brojni ekološki čimbenici od kojih su najvažniji klima, struktura i sastav tla, nadmorska visina, ekspozicija, temperatura i vlaga tla (Širić i Širol, 2019). U svom radu Širić i Širol (2019) navode da je za razvoj plodišta tartufa važna mikroklima i određena količina vlage u tlu te da uglavnom rastu na tlima neutralne do lužnate reakcije.

Budući da je oko 40% Hrvatske prekriveno šumama, Tikvić i sur. (2017) smatraju da je Hrvatska potencijalno bogata tartufima. Od otprilike 180 poznatih vrsta tartufa, u Hrvatskoj je poznato nekoliko desetaka vrsta, no nije utvrđen točan broj (Tikvić i sur., 2017).

Općenito su u svijetu od crnih tartufa najpoznatije vrste: crni tamnosporni tartuf (lat. *Tuber melanosporum* Vittadini), ljetni tartuf (lat. *Tuber aestivum* Vittadini), zimski tartuf (lat. *Tuber brumale* Vittadini), golemosporni tartuf (lat. *Tuber macrosporum* Vittadini), crijevoliki tartuf (lat. *Tuber mesentericum* Vittadini), *Tuber uncinatum* Chatin, *Tuber hiemalbum* i *Tuber melanconii* (Tikvić i sur., 2017). Od bijelih tartufa najpoznatije su vrste: bijeli tartuf (lat. *Tuber magnatum* Pico), borhijev tartuf (lat. *Tuber borchii* Vittadini), ožujski tartuf (lat. *Tuber albinum* Pico), pjegavi tartuf (lat. *Tuber maculatum* Vittadini), izdubljeni tartuf (lat. *Tuber excavatum* Vittadini), crvenkasti tartuf (lat. *Tuber rufum* Pico), *Tuber nitidum* Vittadini, *Tuber ferrugineum*, *Tuber oligosporum* Vittadini, i *Tuber asa* (Tikvić i sur., 2017).

Bijeli tartufi uglavnom se nalaze na poplavnim nizinskim šumama, vlažnim dolinama i blagim padinama, jer su prilagođeni na vapnena i glineno-ilovasto-pjeskovita tla (Širić i Širol, 2019). Za razliku od staništa bijelih tartufa, crni tartufi uglavnom nastanjuju tla s većim udjelom vapna i tla veće propusnosti s dobrim dreniranjem (Širić i Širol, 2019). Crnim tartufima pogoduje pravilan raspored oborina tijekom cijele godine i veća toplinska energija, stoga najčešće nastanjuju padine južne ekspozicije (Širić i Širol, 2019).

#### 2.1.1. Značajke crnog tamnospornog tartufa (*Tuber melanosporum*)

Plodište crnog tamnospornog tartufa u većini slučajeva je veličine od 3 do 5 centimetra, okruglog je oblika, vanjski sloj je crne boje i bradavičastog izgleda (Širić i Širol, 2019). Gleba crnog tamnospornog tartufa je smeđe-crne boje s mnogo sitnih svijetlih trakastih tkiva (Širić i Širol, 2019). Prema Wang i Marcone (2011) trakasta tkiva u dodiru sa zrakom postaju ružičaste

boje. Plodišta ove vrste tartufa dozrijevaju od studenog do ožujka i domaćini su dušik fiksirajućim bakterijama, koje tartufima dopremaju potrebne dušične spojeve (Širić i Širol, 2019). Askus sadrži 1 do 6 spora koje su eliptičnog oblika sa sitnim šiljcima (Wang i Marccone, 2011; Širić i Širol, 2019).

Prirodna rasprostranjenost crnog tamnospornog tartufa je na području mediteranskih regija Francuske, Italije, Hrvatske, Srbije i Španjolske (Wang i Marccone, 2011, Chahuan i sur., 2021). Crni tamnosporni tartuf najčešće tvori mikorizu s hrastom meduncem, crnim grabom, alepskim borom, običnim borom i pinijom (Tikvić i sur., 2017).

Crni tamnosporni tartuf uglavnom nastanjuje tla s velikim udjelom vapna, koja su dobro prozračena i za optimalan rast ovoj vrsti pogoduju šumska staništa s velikom količinom svjetlosti (Wang i Marccone, 2011).

Na smanjen intenzitet rasta okolne vegetacije crni tamnosporni tartuf utječe proizvodnjom alelopatskih tvari kojima stvaraju strukturu zvanu *brulé*, odnosno područje s velikim brojem plodišta (Napoli i sur., 2010; Splivallo i sur., 2011; Webster i Weber, 2017; Širić i Širol, 2019). U svom radu Napoli i sur. (2010) navode da do takve pojave dolazi kad crni tamnosporni tartuf stvori veliku količinu micelija i postane dominantan. Posljedično na tom području dolazi do inhibicije rasta ostalih mikoriznih gljiva (Napoli i sur., 2010).

Ključne hlapljive tvari crnog tamnospornog tartufa prvi put su opisane 1980. godine i nakon toga mnoga istraživanja su pokrenuta kako bi se odredile uloge hlapljivih tvari u svim razvojnim stadijima tartufa (Splivallo i sur., 2011).

### 2.1.2. Značajke ljetnog tartufa (*Tuber aestivum*)

Plodište ljetnog tartufa u prosjeku je veličine od 2 do desetak centimetara, vanjski sloj je smeđe-crne boje s piramidalnim kvržicama. Unutrašnji sloj ljetnog tartufa je tamno smeđe boje i isprepleten je bijelim trakastim tkivima koja u dodiru sa zrakom ne mijenjaju boju. U askusu ljetnog tartufa postoje 1 do 7 spora koje su smeđe boje i mrežastog izgleda. Plodište ljetnog tartufa sazrijeva u rujnu, krajem prosinca ili krajem siječnja (Wang i Marccone, 2011).

Ljetni tartuf jedna je od najraširenijih vrsta tartufa zbog velike prilagodljivosti na klimu i tip tla (Leonardi i sur., 2011; Tikvić i sur., 2017). Ljetni tartuf uglavnom tvori mikorizu s vrstama drveća obična lijeska, bukva i breza (Wang i Marccone, 2011; Leonardi i sur., 2021).

Ljetni tartuf nastanjuje uglavnom sličan tip staništa koji nastanjuje crni tamnosporni tartuf, jedino je veći udio silta i organske tvari u tlu na staništima ljetnog tartufa (Wang i Marccone, 2011).

## 2.2. Biokemijske značajke tartufa

Gljive su izvor nutrijenata, proteina, minerala i vitamina zbog čega se često koriste u prehrani (Bellettini i sur., 2016). Unutar carstva gljive velika pažnja pridaje se porodici tartufa zbog aromatskih svojstava i nutritivnih vrijednosti te zbog njihovog biološkog potencijala i uloge u organizmu (Wang i Marccone, 2011). Posljedično, više istraživanja provedeno je u pogledu aromatskih svojstava i organskog sastava, dok su saznanja o anorganskom sastavu tartufa ograničena (Rossbach i sur., 2019).

U odnosu na druge vrste unutar carstva gljiva koje se koriste u prehrani, tartufi sadrže veću količinu proteina i esencijalnih aminokiselina sa sulfatnom skupinom (Wang i Marccone, 2011; Chauhan i sur., 2021). Metionin, cistin, triptofan i lizin su esencijalne aminokiseline koje su prisutne u većini europskih vrsta tartufa, a limitirajuće su aminokiseline u drugim izvorima hrane (Wang i Marccone, 2011; Chauhan i sur., 2021).

Tartufi također u odnosu na druge vrste jestivih gljiva sadrže obilje kalija, fosfora, željeza, natrija, magnezija, mangana, cinka i kalcija (Chauhan i sur., 2021). Važno je napomenuti da navedene elemente ne sadrži svaka vrsta tartufa, niti su prisutni u istom omjeru kod svih vrsta (Lee i sur., 2009; Wang i Marccone, 2011).

Od esencijalnih elemenata Moura i sur. (2007) izdvajaju cink kao element kojeg gljive akumuliraju u visokim koncentracijama, a u ljudskom organizmu sudjeluje u metaboličkim putevima.

Iako su navedeni elementi i spojevi važni za normalno funkcioniranje organizma, tartufi se ne koriste u svakodnevnoj prehrani zbog relativno visoke cijene (Chauhan i sur., 2021). No, nutritivne vrijednosti tartufa od velikog su značaja za životinje koje se njima hrane (Wang i Marccone, 2011).

Budući da se u većini slučajeva tartufi nalaze u tlu razvili su karakterističan miris kojim privlače životinje kako bi učinkovito raznijeli spore. Svaka vrsta tartufa proizvodi specifičnu kombinaciju aromatičnih komponenti (Chauhan i sur., 2021). Najčešće aromatske komponente tartufa su alkoholi, esteri, ketoni, aldehidi i sumporne komponente (Liu i sur., 2017; Chauhan i

sur., 2021). Na specifičan miris utječu i mikroorganizmi koji su prisutni u svim stadijima razvoja tartufa (Chauhan i sur., 2021).

Culleré i sur. (2010) proveli su istraživanje kojim su pokazali da crni tamnosporni tartuf emitira do sto puta jaču aromu od ljetnog tartufa. Budući da se radi o lako hlapljivim spojevima, moguće je da u istraživanjima koncentracije pojedinih spojeva budu manje od očekivanih (Liu i sur., 2017).

Značaju tartufa doprinosi činjenica da je za pojedine vrste poznato da posjeduju antioksidativne, antimikrobne, antivirusne, protuupalne aktivnosti i pomažu zaštiti od bolesti jetre (Wang i Marcone, 2011; Chauhan i sur., 2021).

Nakupljanjem selena u plodištu gljive imaju veći antioksidativni učinak na organizam koji ih konzumira (Lee i sur., 2009). U svom radu Chauhan i sur. (2021) navode da određene vrste tartufa posjeduju spojeve koji pomažu pri navedenim aktivnostima te u pojedinim slučajevima tartufi pokazuju veći potencijal biološke aktivnosti od uobičajenih, sintetiziranih spojeva.

Istraživanjem roda *Tuber* izolirano je 52 polisaharida koji pokazuju veliki potencijal za protutumorsku aktivnost. U kontroliranom uzgoju tartufa izolirani su polisaharidi iz micelija koji imaju potencijal za protutumorsku i protuupalnu aktivnost. Iako su navedene biološke aktivnosti poznate, zasad nema zabilježenih liječenja niti medicinskih proizvoda na bazi tartufa (Thomas i sur., 2021).

### 2.3. Biokemijske interakcije u sustavu tlo-drvo-tartuf

Svojstva tla direktno utječu na rast i razvoj tartufa, a isto tako kolonizacijom tartufi utječu na promjene sastava tla (Zhang i sur., 2020). Tartufi biokemijskim procesima povećavaju dostupnost organske tvari, fosfora i dušika u tlu kako bi osigurali brži razvoj biljke domaćina (Zhang i sur., 2020).

Tartufi su razvili mehanizme kojima biljku domaćina opskrbljuju esencijalnim nutrijentima, a sprječavaju dovod toksičnih elemenata kako bi zauzvrat od biljke domaćina dobili potrebne ugljikohidrate (Rossbach i sur., 2019).

Tartufi proizvode brojne hlapljive organske tvari od najranijeg stadija, odnosno prije stupanja u mikorizu s biljkama, zatim tijekom razdoblja u kojem stupa u mikorizu s korijenjem biljaka te tijekom reproduktivne faze u kojem je plodište u potpunosti razvijeno. Jedna vrsta bijelog tartufa proizvodnjom hormona etilena i indol-3-acetilne kiseline inducira produljenje

korijenovih dlačica i utječe na promjenu izgleda korijena jedne vrste iz porodice krstašica s kojom ne stupa u mikorizu. Jedna od pretpostavki je da ispuštanjem ta dva hormona u tlo tartuf indirektno pospješuje mogućnost susreta s biljkom s kojom stupa u mikorizu (Splivallo i sur., 2011).

Crni tamnospori tartuf, u slučaju da na određenom staništu postane dominantan, stvara već prije spomenutu pojavu *brulé*, zbog čega nastaje područje sa smanjenom pokrivenosti vegetacijom (Napoli i sur., 2010; Splivallo i sur., 2011; Webster i Weber, 2017; Širić i Širol, 2019). Do te pojave dolazi kad tartuf ispušta hormone u tlo i djeluje na korijenje okolnih biljaka kako bi se povećala uspješnost interakcije sa simbiotskom biljkom (Splivallo i sur., 2011). U sakupljenim uzorcima tla Napoli i sur. (2010) uočili su manju bioraznolikost na području *brulé*-a, čime su potvrdili biokemijsko djelovanje crnog tamnospornog tartufa.

#### 2.4. Utjecaj svojstava i sastava supstrata na razvoj gljiva

Smatra se da je za optimalan rast gljiva potrebna prisutnost određenih kemijskih elemenata i spojeva te specifičan tip supstrata u kojem ili na kojem se gljive razvijaju (Lee i sur., 2009). Kemijski sastav i svojstva supstrata utječu na morfologiju i prinos gljiva (Siwulski i sur., 2019). Na rast gljiva mogu utjecati mikroorganizmi koji su prisutni u tlu (Garcia-Borreda i sur., 2021).

Osim kemijskog sastava i biotičkih čimbenika, na produktivnost gljiva utječu i abiotički čimbenici u tlu poput temperature, vlage i pH vrijednosti (Garcia-Barreda i sur., 2021). Povećanjem temperature u supstratu tijekom zimskih mjeseci eksperimentalno je pokazano kako je moguće ubrzati proces razvoja plodišta gljiva (Garcia-Barreda i sur., 2021). Gljivama je za rast nepovoljna prevelika količina vlage u tlu zbog mogućeg razvoja bolesti (Bellettini i sur., 2016). No isto tako je nepovoljna i nedostatna količina vlage, jer tada gljiva ne dobiva dovoljno tvari i ne može rasti (Bellettini i sur., 2016).

U svom radu Jaillard i sur. (2014) navode da je za razvoj vrste crnog tamnospornog tartufa potreban dobro strukturirani supstrat s mnogo pora i dobrim prozračivanjem kako bi se odvijala izmjena plinova i spriječila hipoksija. Poroznost tla u ovom slučaju osigurava prolaz vode kroz čitavi profil tla, a višak vode se procjeđuje (Jaillard i sur., 2014).

Na težinski doprinos plodišta tartufa ponajviše utječe dovod hranjivih tvari od biljke domaćina, dok na sam smještaj plodišta utječe stupanj prozračivosti tla. Oblik plodišta tartufa tijekom razvoja mijenja se prilikom mehaničke interakcije s matriksom okolnog tla. Stoga se



može očekivati da su plodišta manje mase i volumena pravilnijeg oblika, jer postoji manja vjerojatnost mehaničkog ograničenja. Povećanjem mase i volumena oblik plodišta postaje nepravilniji zbog interakcija s matriksom tla (Garcia-Barreda, 2021).

Od kemijskih spojeva prisutnih u tlu na razvoj vrste ljetnog tartufa značajno utječe koncentracija kalcijevog karbonata, odnosno kalcijevih iona. Povećanjem koncentracije kalcijevog karbonata u tlu pospješuje se razvoj ljetnog tartufa, jer se tada ostvaruje optimalna pH vrijednost tla i kemijskim reakcijama kalcij postaje dostupan tartufima (Hilszczańska i sur., 2018).

Dodavanjem potrebnih mineralnih tvari u supstrat, Mallikarjuna i sur., 2012 navode da se može ubrzati rast micelija gljiva 25% od uobičajenog rasta. Osim na uobičajenim supstratima, gljive mogu rasti na alternativnom, nutritivno bogatom i ekološki prihvatljivom materijalu poznatom kao agro otpad (Bellettini i sur., 2016; Siwulski i sur., 2019). Primjeri za agro otpad su rižina slama, pšenična slama, kukuruzna slama, pamučni otpad, otpad od borovih iglica i/ili maslina, na izrezanom uredskom papiru i biljnim vlaknima (Bellettini i sur., 2016). Svaki od navedenih tipova agro otpada sadrži tvari koje gljive mogu iskoristiti za rast i razvoj te se mogu međusobno kombinirati kako bi se povećala produktivnost (Bellettini i sur., 2016; Siwulski i sur., 2019).

Jaillard i sur. (2014) navode da nije razjašnjena točna uloga potrebnih uvjeta za rast i razvoj tartufa, stoga se za kultivaciju provode istraživanja kako bi se došlo do najboljih rezultata.

## 2.5. Akumulacija metala u gljivama

Dobro je poznata činjenica da gljive imaju sposobnost bioakumulacije minerala i metala iz supstrata u kojem se nalaze (Mallikarjuna i sur., 2012). Iz toga proizlazi da kemijski sastav tla utječe na akumulaciju kemijskih elemenata u plodištu gljiva (Lee i sur., 2009).

Metali u tragovima se mogu u tlu pojavljivati prirodno i kao posljedica antropogenog djelovanja (Enuneku i sur., 2020). Industrijalizacija i ostale ljudske aktivnosti utječu na povećanje metala u tragovima u tlu zbog čega se smatraju zagađivačima (Ivanić i sur., 2018). Povišene koncentracije metala u tragovima u tlu mogu poremetiti mikrobiološke aktivnosti i time utjecati na biokemijske procese u tlu (Enuneku i sur., 2020). Od metala u tragovima najviše se istraživanja provodi na teškim metalima zbog njihove akumulacije u gljivama (Svoboda i Chrastný, 2008).

Organizmu su potrebne male koncentracije teških metala poput željeza, kobalta, bakra, mangana, kroma i cinka, dok su primjerice arsen, kadmij i olovo štetni organizmu u vrlo malim koncentracijama. Nakupljanje esencijalnih teških metala u velikim koncentracijama može također biti štetno za organizam (Mallikarjuna i sur., 2012).

Eksperimentalno je dokazano da povećanjem koncentracije toksičnih elemenata u tlu dolazi do nakupljanja istih elemenata u plodištu gljiva (Kalač i Svoboda, 2000; Siwulski i sur., 2019). U slučaju lokalnog zagađenja tla veća koncentracija elemenata nakuplja se u vanjskom sloju tartufa (Rossbach i sur., 2019).

Pojedine vrste gljiva akumuliraju puno veću koncentraciju toksičnih elemenata u odnosu na koncentraciju istih elemenata u supstratu (Širić i sur., 2017; Siwulski i sur., 2019). Za gljive iz roda *Agaricus* je poznato da su hiperakumulatori kadmija, odnosno da akumuliraju visoku koncentraciju kadmija bilo da se radi o nezagađenom ili prethodno zagađenom supstratu (Kalač i Svoboda, 2000; Širić i sur., 2017). Za vrste koje ne akumuliraju visoke koncentracije kadmija pretpostavlja se da imaju dublji micelij, jer se kadmij nakuplja u gornjim horizontima tla (Širić i sur., 2017).

Različiti dijelovi plodišta gljiva akumuliraju različitu koncentraciju teških metala zbog mehanizama akumulacije (Širić i sur., 2017). Gljive koje u visokim koncentracijama akumuliraju živu, akumuliraju je na strukturama s mnogo proteina i enzima (Širić i sur., 2017).

Visoka koncentracija metala pronađena u ranijim stadijima razvoja gljiva može se objasniti transportom elemenata iz tla do gljiva kako bi se osigurao razvoj (Kalač i Svoboda, 2000; Svoboda i Chrastný, 2008). Daljnjim rastom i razvojem plodišta gljiva smanjuju se koncentracije metala u samom plodištu (Kalač i Svoboda, 2000; Svoboda i Chrastný, 2008).

Mikorizne gljive imaju sposobnost biotransformacije, odnosno pretvorbe topivih metala u netopive organske spojeve. Na taj način se elementi u tragovima mogu vezati za karboksilne i hidroksilne skupine u staničnoj stijenci kako bi se imobilizirali (Rossbach i sur., 2019). U svom radu Rossbach i sur. (2019) navode da su svi elementi u tragovima i mikroelementi bili koncentrirani u vanjskom sloju ljetnog tartufa, što podržava teoriju o imobilizaciji elemenata i minerala.

Zbog sposobnosti akumulacije i biotransformacije, gljive se često koriste u mikoremedijaciji područja koje je zagađeno visokom koncentracijom teških metala (Kalač i Svoboda, 2000).

## 2.6. Procjena utjecaja na zdravlje

Nužno je analizirati koncentracije kemijskih elemenata u tlu i gljivama, pogotovo u državama u kojima se konzumira veća količina gljiva ili proizvoda na bazi gljiva (Svoboda i Chrastný, 2008). Korištenjem bioloških indikatora zagađenja mogu se na jednostavan način identificirati negativni faktori na određenom staništu (Ivanić i sur., 2018).

Gljive koje rastu u blizini izvora zagađenja uglavnom se izbjegavaju i ne konzumiraju se, dok se za gljive u šumskim, prirodnim područjima smatra da su sigurne za konzumaciju (Ivanić i sur., 2021). No, potrebno je poznavati geokemijska svojstva tla kako bi se procijenio potencijalno negativan učinak na zdravlje (Ivanić i sur., 2021). Na nezagađenom području koncentracije teških metala su uglavnom niske, ali gljive su dobri akumulatori bez obzira na koncentraciju u tlu i zato je potrebno analizirati sastav tla i gljiva (Širić i sur., 2017).

Akumulacijom teških metala u plodištu gljiva dovodi se u pitanje utjecaj na zdravlje čovjeka prilikom konzumacije (Širić i sur., 2017; Ivanić i sur., 2021). Stoga je nužno kontrolirati sastav supstrata u slučaju kultivacije gljiva kako ne bi došlo do izlaganja toksičnim metalima (Siwulski i sur., 2019). U slučaju konzumacije elemenata poput kadmija, arsena i olova može doći do akumulacije istih i poremećaja mnogih metaboličkih procesa i funkcija u organizmu (Ivanić i sur., 2019). Na temelju provedenog istraživanja Ivanić i sur. (2021) zaključili su da na ukupnu štetnost gljiva najviše utječu arsen, kadmij i bakar.

Kalač i Svoboda (2000) u svom radu navode da se ispiranjem i čišćenjem gljiva prije konzumacije učinkovito smanjuju koncentracije kadmija, olova, bakra i cinka.

Kultivirane vrste gljiva akumuliraju nižu koncentraciju teških metala od vrsta na prirodnom staništu, zbog kontroliranih uvjeta i točno određenih koncentracija metala u kultiviranim vrstama (Kalač i Svoboda, 2000).

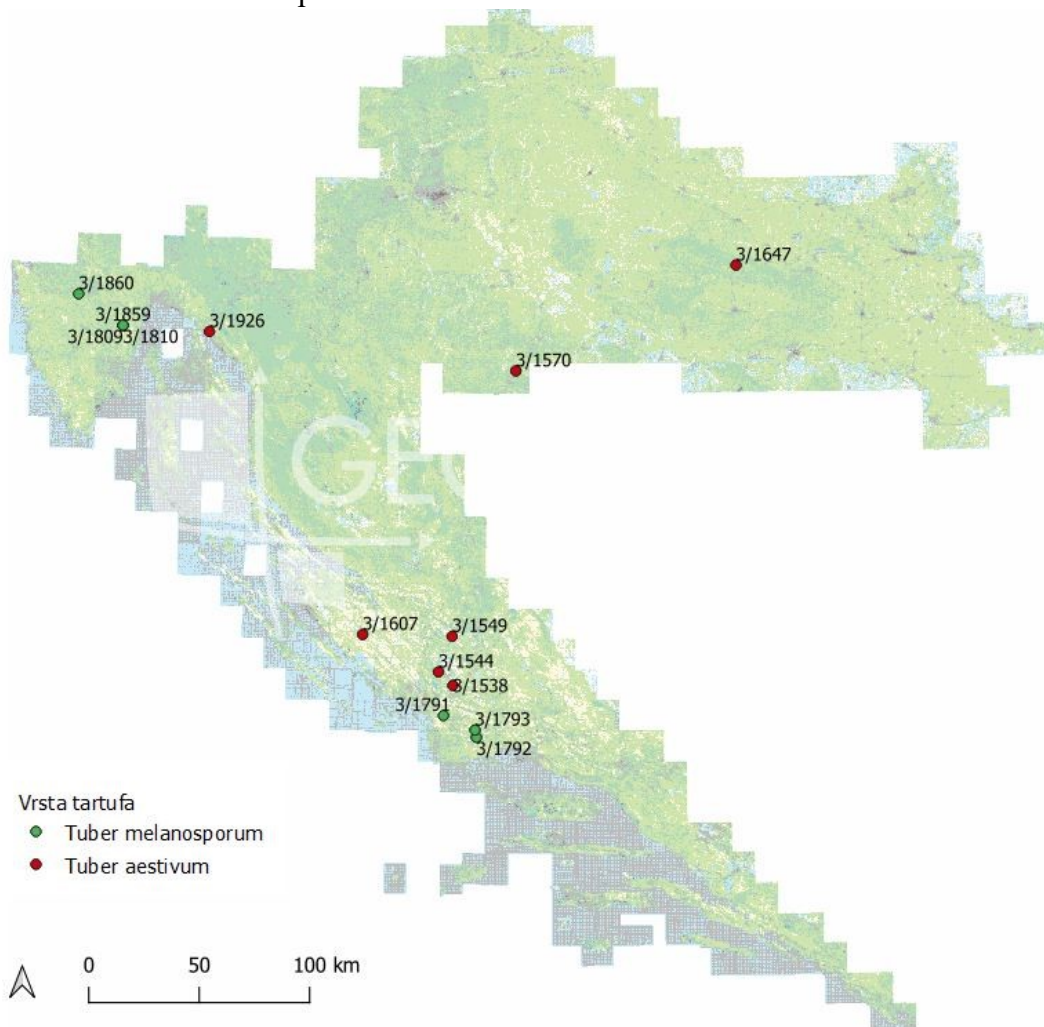
Budući da gljive akumuliraju i podnose visoke koncentracije toksičnih elemenata, nužan je oprez prilikom konzumacije i provođenje analize kemijskog sastava gljiva (Ivanić i sur., 2021).

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Uzorkovanje i područje istraživanja

Za istraživanje je uzeto 7 uzoraka vrste crni tamnospori tartuf (*Tuber melanosporum*) i 7 uzoraka vrste ljetni tartuf (*Tuber aestivum*) s ukupno 12 lokaliteta i 6 različitih tipova staništa na području Republike Hrvatske. Na istim lokacijama također su uzeti uzorci kore drveta i tla. Svi uzorci uzeti su tijekom 2018. i 2019. godine. Sa svakog lokaliteta uzet je po jedan uzorak tartufa, jedan uzorak površinskog sloja tla i jedan uzorak jedinke drveta koja se nalazila u neposrednoj blizini uzorkovanih tartufa.

Lokacije uzorkovanja prikazane su na Slici 1. s pripadajućim oznakama, a detaljni podaci o uzorcima i staništima prikazani su u Tablici 1.



**Slika 1.** Kartografski prikaz lokacija uzorkovanja tartufa, tla i kora drveta s pripadajućim oznakama. Vrsta *Tuber melanosporum* prikazana je zelenom oznakom i vrsta *Tuber aestivum* prikazana je crvenom oznakom.

**Tablica 1.** Oznake, datum uzorkovanja, lokalitet, geografske koordinate i tip staništa uzorkovanih vrsta tartufa i pripadajućih kora drveta i tla.

NR.	TAKSON	DATUM	LOKALITET	LAT. / N	LONG. / E	STANIŠTE
3/1538	<i>Tuber aestivum</i>	27.07.2018.	Pokrovnik, Drniš	43°48'32,5"	16°03'39,5"	šumarak <i>Quercus pubescens</i>
3/1544	<i>Tuber aestivum</i>	27.07.2018.	Stinice, Visovac, NP Krka	43°51'50,5"	15°58'46,8"	sastojina <i>Quercus pubescens</i> , <i>Carpinus orientalis</i>
3/1549	<i>Tuber aestivum</i>	16.08.2018.	Donji Radići, NP Krka	44°00'34,8"	16°03'19,8"	guštik <i>Carpinus orientalis</i> , <i>Quercus pubescens</i> , iz panja
3/1570	<i>Tuber aestivum</i>	11.09.2018.	Općina Visoko, Novi Marof	45°05'38,4"	16°24'51,2"	sastojina <i>Fagus sylvatica</i> , <i>Carpinus betulus</i> , <i>Corylus avellana</i>
3/1607	<i>Tuber aestivum</i>	03.10.2018.	Zapužane, Benkovac	44°00'51,3"	15°33'00,1"	kultura <i>Pinus halepensis</i> , u sloju grmlja vrlo gust <i>Carpinus orientalis</i>
3/1647	<i>Tuber aestivum</i>	31.10.2018.	Park šuma Jankovac, PP Papuk	45°31'11,7"	17°41'24,4"	Park šuma Jankovac, stara sastojina <i>Fagus sylvatica</i> , <i>Quercus petraea</i> , <i>Corylus avellana</i>
3/1926	<i>Tuber aestivum</i>	03.05.2019.	Drivenik, Crikvenica	45°14'24,8"	14°38'44,6"	sastojina <i>Quercus pubescens</i> , <i>Ostrya carpinifolia</i>
3/1791	<i>Tuber melanosporum</i>	25.2.2019.	Boraja, Šibenik	43°41'10,9"	16°00'33,9"	kamenjar s garigom <i>Juniperus oxycedrus</i> , <i>Quercus pubescens</i> , <i>Ostrya carpinifolia</i>
3/1792	<i>Tuber melanosporum</i>	25.2.2019.	Prapatnica, Trogir	43°35'51,4"	16°11'41,0"	kamenjar s garigom <i>Quercus pubescens</i> , <i>Juniperus oxycedrus</i> , <i>Carpinus orientalis</i>
3/1793	<i>Tuber melanosporum</i>	25.2.2019.	Primorski Dolac, Perković	43°37'39,0"	16°11'13,9"	kamenjar s makijom <i>Carpinus orientalis</i> , <i>Juniperus oxycedrus</i>
3/1809	<i>Tuber melanosporum</i>	28.2.2019.	Šušnjeвица, pl. Učka, Istra	45°15'21,5"	14°08'44,3"	kamenjar s <i>Ostrya carpinifolia</i>
3/1810	<i>Tuber melanosporum</i>	28.2.2019.	Šušnjeвица, pl. Učka, Istra	45°15'22,0"	14°08'46,4"	kamenjar s <i>Ostrya carpinifolia</i>
3/1859	<i>Tuber melanosporum</i>	10.3.2019.	Šušnjeвица, pl. Učka, Istra	45°15'23,5"	14°08'45,1"	kamenjar s <i>Ostrya carpinifolia</i>
3/1860	<i>Tuber melanosporum</i>	10.3.2019.	Istarske Toplice, Istra	45°22'44,2"	13°53'03,5"	kamenjar i rudine materijala izvađenog iz starih kamenoloma, jako vapneno, vrlo strmo

Latinski i hrvatski nazivi vrsta drveća iz Tablice 1.: lat. *Quercus pubescens* (hrast medunac); lat. *Carpinus orientalis* (bijeli grab); lat. *Fagus sylvatica* (obična bukva); lat. *Carpinus betulus* (običan grab); lat. *Corylus avellana* (obična lijeska); lat. *Pinus halepensis* (alepski bor); lat. *Quercus petraea* (hrast kitnjak); lat. *Ostrya carpinifolia* (crni grab); lat. *Juniperus oxycedrus* (šmrika)

Tipovi staništa prema Nacionalnoj klasifikaciji staništa Republike Hrvatske (NN 27/2021):

1. E.3.5.1. Šuma i šikara medunca i bijelograba (oznaka uzorka 3/1538, 3/1544 i 3/1549)
2. E.4.5. Mezofilne i neutrofilne čiste bukove šume (oznaka uzorka 3/1570 i 3/1647)
3. C.3.5. Submediteranski i epimediteranski suhi travnjaci (oznaka uzorka 3/1607, 3/1809, 3/1810 i 3/1859)
4. D.3.4. Bušici (oznaka uzorka 3/1791, 3/1792 i 3/1793)
5. E.3.5. Primorske, termofilne šume i šikare medunca (oznaka uzorka 3/1926)
6. J.4.3.2. Napušteni površinski kopovi (nesanirani) (oznaka uzorka 3/1860)

### 3.2. Priprema uzoraka za multielementnu analizu

Prije multielementne analize prikupljenih uzoraka tartufa, tla i kore drveta, uzorci su sušeni na zraku i usitnjeni u ahatnom tarioniku. Nakon usitnjavanja uzorci su prema propisanim metodama raščinjani u zatvorenom mikrovalnom sustavu.

Zatvoreni mikrovalni sustav Multiwave ECO (Anton Paar) služi za digestiju ili raščinjavanje uzoraka i provodi se u jedan ili dva koraka, ovisno o tipu uzorka.

Raščinjavanje uzoraka tla provodi se u dva koraka. Poduzorku tla (0,05 g) dodaje se 4 mL dušične kiseline (65%  $\text{HNO}_3$  *pro analysi*, Kemika, Zagreb, Hrvatska), 1 mL klorovodične kiseline (36,5%  $\text{HCl}$  *pro analysi*, Kemika, Zagreb, Hrvatska) i 1 mL fluorovodične kiseline (48%  $\text{HF}$  *pro analysi*, Kemika, Zagreb, Hrvatska). U drugom koraku se dodaje 6 mL borne kiseline ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ , Fluka, Steinheim, Švicarska) i tako pripremljeni uzorci tla digestiraju se u zatvorenom mikrovalnom sustavu. Nakon digestije uzorci su razrijeđeni 10 puta i u svaku otopinu dodano je 2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  (65% supra pur, Fluka, Steinheim, Švicarska) i indij (In,  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) koji služi kao interni standard.

Raščinjavanje kore drveta i tartufa provodi se u jednom koraku. Poduzorke kore drveta ili tartufa (0,05 g) dodaje se 7 mL dušične kiseline (65%  $\text{HNO}_3$  *pro analysi*, Kemika, Zagreb, Hrvatska) i 0,1 mL fluorovodične kiseline (48%  $\text{HF}$  *pro analysi*, Kemika, Zagreb, Hrvatska). Nakon digestije uzorcima se dodaje 2% (v/v)  $\text{HNO}_3$  (65% supra pur, Fluka, Steinheim, Švicarska) i indij (In,  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) kao interni standard, bez dodatnog razrijeđenja.

Detaljni opis postupaka pripreme uzoraka za multielementnu analizu opisani su u radu Fiket i sur. (2017) te u radu Ivanić i sur. (2018).

### 3.3. Multielementna analiza uzoraka

Multielementna analiza provedena je spektrometrijom masa visoke razlučivosti uz induktivno spregnutu plazmu (eng. *High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, HR-ICP-MS) na uređaju Element 2 (Thermo, Bremen, Njemačka). Standardi za multielementnu analizu pripremljeni su odgovarajućim razrijeđivanjem standardne multielementne otopine (Analytika, Prag, Češka) koji sadrži Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb i Tl ( $100 \pm 0,2 \text{ mg L}^{-1}$ ) uz dodatak pojedinačne standardne otopine Sn ( $1,000 \pm 0,002 \text{ g L}^{-1}$ , Analytika, Prag, Češka).

Svi uzorci tla, tartufa i kore drveta analizirani su na ukupno 8 elemenata (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl) te su određene njihove ukupne koncentracije u uzorcima.

Osim uzoraka tla, tartufa i kore drveta, analizirani su odgovarajući certificirani referentni materijali koji služe kao kontrola kvalitete mjerenja. Korišteni su certificirani referentni materijal tla (Soil NCS DC 77302, također poznat kao GBW 07410; China National Analysis Centre for Iron and Steel, Peking, Kina) i list citrusa (Citrus leaf NCS ZC73018, China National Analysis Center for Iron & Steel, Peking, Kina).

### 3.4. Statistički parametri

Za svaki element, u svakom od ispitivanih tipova uzoraka izračunate su minimalna (min), maksimalna (max) i srednja (avg) vrijednost te standardna devijacija (stdev). Uz navedeno izračunati su i koeficijenti varijacije (CV) prema formuli:  $CV=(stdev/avg)*100$ , u svrhu lakše interpretacije disperzije podataka.

Izračunati su bioakumulacijski faktori za svaki element, u svim ispitivanim uzorcima tartufa i tla prema formuli:  $BAF=C(gljiva)/C(tlo)$  te minimalna (min), maksimalna (max) i srednja (avg) vrijednost za svaki element. Bioakumulacijski faktor nužan je kako bi se procijenila hiperakumulacija pojedinih elemenata u organizmu (Širić i sur., 2017).

Nadalje su izračunati geoakumulacijski indeksi za svaki element, u svim ispitivanim uzorcima tla koristeći formulu:  $I_{geo}=\log_2(Cn/(1,5*GB))$ , pri čemu je GB geokemijska pozadinska vrijednost. Za svaki element su izračunata minimalna (min), maksimalna (max) i srednja (avg) vrijednost. Geoakumulacijski indeks ukazuje na potencijalno onečišćenje teškim metalima u odnosu na pozadinsku geokemijsku vrijednost (Kowalska i sur., 2018).

Također je izračunat indeks zagađenja tla (PI) za svaki element, u svim ispitivanim uzorcima tla prema formuli:  $PI=Cn/GB$  te minimalna (min), maksimalna (max) i srednja (avg) vrijednost za pojedini element. Indeks zagađenja tla upućuje na potencijalnu opasnost u slučaju zagađenja određenim teškim metalom (Kowalska i sur., 2018).

## 4. REZULTATI

### 4.1. Ukupne koncentracije elemenata u uzorcima tla

Ukupne koncentracije 8 elemenata (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl) u ukupno 14 uzoraka tla prikazane su u Tablici 2. Raspon koncentracija elemenata kreće se od 0,192 mg kg<sup>-1</sup> (Cd) do 401 mg kg<sup>-1</sup> (Cr).

U svim uzorcima tla Cr pokazuje najveću koncentraciju u usporedbi s ostalih 7 mjerenih elemenata. Nakon Cr, po zastupljenosti slijede Ni pa Pb, uz iznimku u slučaju uzoraka 3/1647 i 3/1791 kod kojih je izmjerena veća koncentracija Pb u odnosu na Ni. Najmanje zastupljen element u uzorcima tla je Bi, osim u slučaju uzorka 3/1860 kod kojeg je izmjerena najmanja koncentracija elementa Cd. Nadalje, po zastupljenosti u uzorcima tla slijede Co i Tl.

Najveće koncentracije većine elemenata izmjerene su u uzorku tla 3/1859 s lokacije Šušnjevića na planini Učka, dok su u tlu 3/1860, koji je uzet na kamenolomu u blizini Istarskih toplica, izmjerene najmanje koncentracije za sve elemente, osim za Bi, Ni i Tl.

Koeficijent varijacije ukazuje na varijabilnost koncentracija elemenata u tlu po lokalitetima (CV 23,9 – 71,2%). Najveći koeficijenti varijacije elemenata u tlu po lokalitetima izračunati su za Cd (71,2%) i Cr (55,0%). Ostali elementi izmjereni u uzorcima tla pokazuju niske do srednje koeficijente varijacije (CV 23,9 – 42,8%) na odabranim lokalitetima.



**Tablica 2.** Koncentracije elemenata u uzorcima tla i izračunate minimalne (min), maksimalne (max) i srednje (avg) koncentracije i standardna devijacija (stdev), izražene u mg kg<sup>-1</sup>, te koeficijent varijacije (CV), izražen u %. U tablici su podebljane najmanja i najveća koncentracija za pojedini element

	Bi	Cd	Co	Cr	Ni	Pb	Sn	Tl
3/1538	0.529	1.47	20.8	174	108	33.3	4.43	1.18
3/1544	0.570	1.43	14.8	104	58.2	47.6	4.30	1.36
3/1549	0.513	1.32	13.5	77.1	55.8	43.0	3.98	1.56
3/1570	<b>0.312</b>	0.760	14.3	98.9	55.6	29.0	3.35	<b>0.585</b>
3/1607	0.598	1.47	22.1	213	107	49.5	<b>9.92</b>	1.62
3/1647	0.382	0.490	14.0	77.8	<b>36.1</b>	48.8	6.44	0.893
3/1926	0.367	0.409	22.0	189	131	30.6	3.98	0.607
3/1791	0.810	2.33	17.5	157	59.0	72.7	6.39	2.36
3/1792	0.700	4.35	14.0	106	97.6	56.5	5.24	2.18
3/1793	0.902	3.00	19.0	140	87.5	75.6	6.46	2.55
3/1809	0.709	3.56	14.3	200	87.9	73.5	5.39	1.78
3/1810	0.905	4.34	19.3	286	116	76.6	6.71	2.24
3/1859	<b>1.29</b>	<b>4.58</b>	<b>23.4</b>	<b>401</b>	<b>150</b>	<b>79.9</b>	5.74	<b>2.58</b>
3/1860	0.440	<b>0.192</b>	<b>8.93</b>	<b>61.1</b>	48.1	<b>25.4</b>	<b>2.72</b>	0.864
min	0.312	0.192	8.93	61.1	36.1	25.4	2.72	0.585
max	1.29	4.58	23.4	401	150	79.9	9.92	2.58
avg	0.645	2.12	17.0	163	85.6	53.0	5.36	1.60
stdev	0.256	1.51	4.07	89.8	33.1	18.9	1.75	0.682
CV	39.7	71.2	23.9	55.0	38.7	35.6	32.7	42.8

#### 4.2. Ukupne koncentracije elemenata u uzorcima tartufa

Izmjerene ukupne koncentracije 8 elemenata (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl) u 14 uzoraka tartufa prikazane su u Tablici 3. Raspon koncentracija elemenata kreće se od ispod granice detekcije (Bi) do 22,4 mg kg<sup>-1</sup> (Ni).

Najveće koncentracije uočene su za Cr za skoro sve uzete uzorke tartufa. Jedino odstupanje od navedenog je uočeno za uzorak tartufa oznake 3/1647 kod kojeg je izmjerena najveća koncentracija za Ni.

U svim uzorcima Bi je prisutan u najmanjim koncentracijama koje se kreću ispod granice detekcije (tartuf s lokacije 3/1792) do koncentracije od 0,046 mg kg<sup>-1</sup> (tartuf s lokacije 3/1647).

Izračunati koeficijenti varijacije u uzorcima tartufa za sve elemente su iznad 50%, što ukazuje na veliku varijabilnost. Najveći koeficijent varijabilnosti izračunat je za Ni (115%) što ukazuje na izrazito veliku varijabilnost uzoraka tartufa.

**Tablica 3.** Koncentracije elemenata u uzorcima tartufa i izračunate minimalne (min), maksimalne (max) i srednje (avg) koncentracije i standardna devijacija pojedinih elemenata, izražene u mg kg<sup>-1</sup> te koeficijent varijacije (CV), izražen u %. Podebljane su najmanje i najveće koncentracije za pojedini element.

	Bi	Cd	Co	Cr	Ni	Pb	Sn	Tl
3/1538	<b>0.0004</b>	<b>0.204</b>	<b>0.027</b>	<b>0.624</b>	<b>0.229</b>	<b>0.060</b>	<b>0.038</b>	<b>0.002</b>
3/1544	0.012	3.86	0.451	9.55	3.01	1.46	0.548	0.040
3/1549	0.006	1.66	0.229	5.04	2.28	0.720	0.522	0.023
3/1570	0.038	2.81	<b>2.37</b>	<b>16.0</b>	9.31	4.61	0.795	0.091
3/1607	0.030	5.89	1.49	14.6	11.0	3.51	0.595	0.100
3/1647	<b>0.046</b>	2.02	1.99	12.3	<b>22.4</b>	<b>5.95</b>	<b>0.916</b>	<b>0.123</b>
3/1926	0.012	1.73	0.417	3.15	2.46	0.765	0.220	0.015
3/1791	0.0003	5.16	0.170	2.84	0.934	0.637	0.142	0.017
3/1792	<DL	<b>8.70</b>	0.108	2.03	1.68	0.472	0.130	0.018
3/1793	0.006	6.75	0.465	2.82	1.59	1.54	0.161	0.038
3/1809	0.009	7.81	0.244	7.27	1.75	1.29	0.415	0.028
3/1810	0.015	7.94	0.602	10.6	3.95	1.85	0.485	0.044
3/1859	0.027	5.63	0.789	13.4	5.96	2.24	0.520	0.072
3/1860	0.012	2.19	0.446	4.86	2.94	0.975	0.426	0.031
min	0.0004	0.204	0.027	0.624	0.229	0.060	0.038	0.002
max	0.046	8.70	2.37	16.0	22.4	5.95	0.916	0.123
avg	0.016	4.45	0.700	7.51	4.97	1.86	0.422	0.046
stdev	0.014	2.65	0.700	4.98	5.69	1.64	0.250	0.035
CV	85.3	59.4	100	66.4	115	88.1	59.1	76.7

\* <DL – ispod granice detekcije

### 4.3. Ukupne koncentracije elemenata u uzorcima kore drveta

U Tablici 4 prikazane su ukupne koncentracije 8 elemenata (Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl) u 14 uzoraka kore drveta. Raspon koncentracija kreće se od 0,001 mg kg<sup>-1</sup> (Bi) do 32,1 mg kg<sup>-1</sup> (Ni).

Na većini lokaliteta u uzorcima kore drveta najveća koncentracija izmjerena je za Ni. Iznimke su uzorci 3/1607, 3/1809, 3/1859 i 3/1860 kod kojih je, od izmjerenih elemenata, Cr prisutan u najvećoj koncentraciji. Iz Tablica 2 i 3, može se uočiti kako su najveće koncentracije Cr uočene u uzorcima tartufa prikupljenih uz tla s visokim koncentracijama Cr.

Najmanje koncentracije u svim uzorcima kore drveta izmjerene su za Bi, što se podudara s niskim koncentracijama istog elementa u uzorcima tartufa.

Svi izračunati koeficijenti varijacije za uzorke kore drveta su iznad 50% i ukazuju na veliku varijabilnost uzoraka, kao što je prethodno navedeno za uzorke tartufa. Izrazito veliki koeficijenti varijacije uzoraka izračunati su za Ni (137%) i Cd (115%). Varijabilnost uzoraka kore drveta za Ni podudara se s velikom varijabilnosti uzoraka tartufa za isti element.

**Tablica 4.** Koncentracije elemenata u uzorcima kore drveta i izračunate minimalne (min), maksimalne (max) i srednje (avg) koncentracije i standardna devijacija pojedinih elemenata, izražene u mg kg<sup>-1</sup> te koeficijent varijacije (CV), izražen u %. Podebljane su najmanja i najveća koncentracija za pojedini element.

	Bi	Cd	Co	Cr	Ni	Pb	Sn	Tl
3/1538	0.006	0.087	0.085	0.703	0.921	0.774	0.177	0.077
3/1544	0.004	0.018	0.096	0.935	3.02	0.448	0.175	0.006
3/1549	0.006	0.018	0.101	1.13	2.17	0.598	0.174	0.008
3/1570	0.006	0.024	0.269	3.88	3.94	0.918	0.403	0.007
3/1607	0.016	<b>0.553</b>	0.200	1.74	0.994	1.66	0.380	0.051
3/1647	0.006	0.032	0.115	0.970	1.84	1.23	0.326	0.007
3/1926	0.014	0.049	0.335	1.92	2.19	1.02	0.203	0.028
3/1791	0.034	0.142	<b>1.16</b>	7.06	<b>32.1</b>	<b>4.78</b>	<b>0.754</b>	0.090
3/1792	<b>0.039</b>	0.338	0.809	6.35	6.42	2.88	0.551	<b>0.128</b>
3/1793	0.030	0.162	1.01	<b>10.2</b>	16.5	3.61	0.746	0.069
3/1809	0.015	0.067	0.315	4.31	3.64	1.52	0.421	0.036
3/1810	0.014	0.170	0.457	7.069	8.07	1.88	0.475	0.040
3/1859	0.015	0.124	0.351	4.61	2.72	1.60	0.477	0.037
3/1860	<b>0.001</b>	<b>0.003</b>	<b>0.027</b>	<b>0.344</b>	<b>0.173</b>	<b>0.102</b>	<b>0.053</b>	<b>0.003</b>
min	0.001	0.003	0.027	0.344	0.173	0.102	0.053	0.003
max	0.039	0.553	1.16	10.2	32.1	4.78	0.754	0.128
avg	0.015	0.128	0.381	3.66	6.05	1.64	0.380	0.042
stdev	0.011	0.146	0.348	2.95	8.26	1.26	0.205	0.036
CV	76.3	114.5	91.4	80.7	136.6	76.4	54.1	86.4

#### 4.4. Bioakumulacijski faktor

Bioakumulacijski faktor ukazuje na sposobnost hiperakumulacije metala u organizmu u slučaju da je bioakumulacijski koeficijent veći od 1.

Bioakumulacijski faktor (BAF) računa se prema formuli:

$$\text{BAF} = \frac{C_{\text{gljiva}}}{C_{\text{tla}}}$$

gdje je C koncentracija za pojedini element (Širić i sur., 2017).

Izračunati bioakumulacijski faktori prikazani su u Tablici 5.

Za većinu mjenjenih elemenata bioakumulacijski faktor manji je od 1, što ukazuje na relativno slabu akumulaciju tih elemenata. Iznimno je za Cd bioakumulacijski faktor veći od 1 za skoro sve uzorke (od uzorka oznake 3/1544 do uzorka oznake 3/1860). Najveći bioakumulacijski faktor od 11,4 izračunat je za Cd za uzorak s lokacije 3/1860. Potrebno je napomenuti da je na tom uzorku tla izmjerena najmanja koncentracija za Cd, kao i minimalna koncentracija za sve mjerene elemente u uzetim uzorcima tla. Uzorak oznake 3/1538 pokazuje bioakumulacijski faktor od 0,139, što je manje od bioakumulacijskih faktora ostalih uzoraka za Cd, ali u odnosu na bioakumulacijske faktore za ostale elemente u tom uzorku vrijednost je mnogo veća.

Najmanji bioakumulacijski faktor zabilježen je za Bi za sve uzorke, budući da su izmjerene koncentracije za taj element bile najmanje u uzorcima tla i tartufa.

**Tablica 5.** Bioakumulacijski faktori izračunati iz omjera koncentracije elemenata u uzorcima tartufa i koncentracije elemenata u uzorcima tla te izračunate minimalne (min), maksimalne (max) i srednje (avg) koncentracije pojedinih elemenata. Podebljane su najmanja (Bi) i najveća koncentracija za pojedini element.

	Bi	Cd	Co	Cr	Ni	Pb	Sn	Tl
3/1538	0.001	<b>0.139</b>	<b>0.001</b>	<b>0.004</b>	<b>0.002</b>	<b>0.002</b>	<b>0.009</b>	<b>0.002</b>
3/1544	0.021	2.69	0.030	0.092	0.052	0.031	0.127	0.030
3/1549	0.011	1.25	0.017	0.065	0.041	0.017	0.131	0.015
3/1570	<b>0.123</b>	3.69	<b>0.165</b>	<b>0.162</b>	0.168	<b>0.159</b>	<b>0.237</b>	<b>0.155</b>
3/1607	0.050	4.01	0.067	0.069	0.103	0.071	0.060	0.062
3/1647	0.121	4.12	0.142	0.158	<b>0.620</b>	0.122	0.142	0.138
3/1926	0.032	4.24	0.019	0.017	0.019	0.025	0.055	0.025
3/1791	<b>0.0004</b>	2.21	0.010	0.018	0.016	0.009	0.022	0.007
3/1792	/	2.00	0.008	0.019	0.017	0.008	0.025	0.008
3/1793	0.006	2.25	0.024	0.020	0.018	0.020	0.025	0.015
3/1809	0.012	2.19	0.017	0.036	0.020	0.018	0.077	0.016
3/1810	0.016	1.83	0.031	0.037	0.034	0.024	0.072	0.019
3/1859	0.021	1.23	0.034	0.033	0.040	0.028	0.091	0.028
3/1860	0.027	<b>11.4</b>	0.050	0.079	0.061	0.038	0.157	0.036
min	0.0004	0.139	0.001	0.004	0.002	0.002	0.009	0.002
max	0.123	11.4	0.165	0.162	0.620	0.159	0.237	0.155
avg	0.034	3.091	0.044	0.058	0.086	0.041	0.088	0.040

\* / - podatak koji se nije mogao izračunati, jer je koncentracija Bi ispod granice detekcije za uzorak tartufa

#### 4.5. Geoakumulacijski indeks i Indeks zagađenja tla

Geoakumulacijski indeks ( $I_{geo}$ ) omogućava procjenu onečišćenja tla teškim metalima u odnosu na pozadinske geokemijske vrijednosti pojedinih elemenata.

Geoakumulacijski indeks ( $I_{geo}$ ) računa se prema formuli:

$$I_{geo} = \log_2 \left[ \frac{C_n}{1,5 * G_B} \right]$$

Gdje je  $C_n$  koncentracija pojedinog teškog metala,  $G_B$  pozadinska geokemijska vrijednost i 1,5 je konstanta (Kowalska i sur., 2018).

Prema vrijednostima  $I_{geo}$  moguće je rasporediti tla u 6 kategorija prikazanih u Tablici 6.

Izračunati geoakumulacijski indeksi ( $I_{geo}$ ) za odabrane elemente prikazani su u Tablici 8 i Tablici 9. U Tablici 9 nisu izračunati geoakumulacijski indeksi za Bi, Sn i Tl, jer u Geokemijskom atlasu Republike Hrvatske nema podataka za navedene elemente.

Za većinu elemenata izračunati geoakumulacijski indeks manji je od 0, zbog čega se prema klasifikaciji navedenoj u Tablici 6 istraživana tla smatraju tlima s niskom razinom onečišćenja. Nadalje prevladavaju vrijednosti od 0 do 1, ukazujući na nisku do srednju razinu onečišćenja. Korištenjem podataka iz Geokemijskog atlasa Europe i Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske najveće vrijednosti izračunatih geoakumulacijskih indeksa mogu se uočiti za Cd. U oba slučaja, najveća vrijednost geoakumulacijskog indeksa od 3,04 prilikom korištenja podataka Geokemijskog atlasa Europe i od 1,76 korištenjem podataka iz Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske dobivena je za uzorak tla s lokacije 3/1859.

Indeks zagađenja tla, odnosno eng. *Single Pollution indeks* (PI) je indeks kojim se može odrediti moguća opasnost u slučaju prisutnosti određenog teškog metala u visokim koncentracijama u samom tlu.

Indeks zagađenja tla (PI) računa se prema formuli:

$$PI = \frac{C_n}{G_B}$$

gdje je  $C_n$  koncentracija pojedinog teškog metala i  $G_B$  pozadinska geokemijska vrijednost za pojedini teški metal (Kowalska i sur., 2018).

Prema vrijednostima PI moguće je rasporediti tla u 5 kategorija prikazanih u Tablici 7.

Izračunati su PI za odabrane elemente uz korištenje podataka iz Geokemijskog atlasa Europe (Tablica 10) i korištenjem podataka iz Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske (Tablica 11). U Tablici 11 nisu izračunati PI za Bi, Sn i Tl, jer u Geokemijskom atlasu Republike Hrvatske nema podataka za navedene elemente.



Najmanje vrijednosti PI izračunate su za Bi, Co i Tl korištenjem podataka iz Geokemijskog atlasa Europe (Tablica 10), odnosno za Co korištenjem podataka iz Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske (Tablica 11).

U Tablici 10 (korištenjem podataka iz Geokemijskog atlasa Europe) i u Tablici 11 (korištenjem podataka iz Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske) mogu se uočiti najveće vrijednosti izračunatih PI za Cd. Dobivena je vrijednost PI od 12,4 za Cd prilikom korištenja podataka Geokemijskog atlasa Europe i vrijednost od 5,09 za Cd korištenjem podataka iz Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske za isti uzorak tla s lokacije 3/1859.

**Tablica 6.** Klasifikacija tala temeljem vrijednosti Geoakumulacijskog indeksa ( $I_{geo}$ ).

$I_{geo}$ vrijednost sedimenta	$I_{geo}$ kategorije	Razina onečišćenja
$I_{geo} < 0$	0	Niska razina onečišćenja
$0 < I_{geo} < 1$	1	Niska do umjerena razina onečišćenja
$1 < I_{geo} < 2$	2	Umjerena razina onečišćenja
$2 < I_{geo} < 3$	3	Umjerena do visoka razina onečišćenja
$3 < I_{geo} < 4$	4	Visoka razina onečišćenja
$4 < I_{geo} < 5$	5	Visoka do vrlo visoka razina onečišćenja
$5 < I_{geo}$	6	Vrlo visoka razina onečišćenja

**Tablica 7.** Klasifikacija tala prema vrijednostima Indeksa zagađenja tla (PI).

PI vrijednost	PI kategorije	Opis onečišćenja tla
$PI < 1$	1	Niska opasnost od onečišćenja
$1 < PI < 2$	2	Umjerena opasnost od onečišćenja
$2 < PI < 3$	3	Srednja opasnost od onečišćenja
$3 < PI < 5$	4	Značajna opasnost od onečišćenja
$5 < PI$	5	Visoka opasnost od onečišćenja

**Tablica 8.** Geoakumulacijski indeks ( $I_{geo}$ ) izračunat pomoću koncentracija elemenata u uzorcima tla dobivenih analizom i pripadajućih koncentracija iz Geokemijskog atlasa Europe te izračunate minimalne (min) i maksimalne (max) koncentracije pojedinih elemenata. Podebljane su najmanja i najveća vrijednost geoakumulacijskog indeksa za svaki element.

	Bi	Cd	Co	Cr	Ni	Pb	Sn	Tl
3/1538	-0.86	0.24	-0.85	-0.71	-0.28	-0.57	-0.76	-1.19
3/1544	-0.75	0.20	-1.34	-1.45	-1.16	-0.06	-0.80	-0.99
3/1549	-0.90	0.09	<b>-1.48</b>	<b>-1.89</b>	<b>-1.23</b>	-0.20	-0.91	-0.79
3/1570	-1.27	1.86	-0.74	-0.42	0.21	-0.25	-0.84	-0.76
3/1607	-0.68	1.40	-0.76	0.37	0.77	-0.35	<b>0.40</b>	-0.73
3/1647	-0.97	1.22	-0.24	-0.76	-0.41	0.50	-0.22	<b>0.22</b>
3/1926	<b>-1.39</b>	0.07	-0.12	0.20	1.06	-0.69	-0.91	<b>-2.14</b>
3/1791	-0.24	0.90	-0.46	-0.08	-0.10	0.55	-0.23	-0.18
3/1792	-0.45	1.81	-0.78	-0.63	0.63	0.19	-0.52	-0.30
3/1793	<b>-0.09</b>	1.27	-0.33	-0.24	0.47	0.61	-0.21	-0.07
3/1809	-1.19	2.68	-0.75	0.28	0.48	0.57	-0.48	-0.60
3/1810	-0.84	2.97	-0.32	0.79	0.88	0.63	-0.16	-0.26
3/1859	-0.33	<b>3.04</b>	<b>-0.04</b>	<b>1.28</b>	<b>1.25</b>	<b>0.69</b>	-0.39	-0.06
3/1860	-1.13	<b>-1.53</b>	-1.43	-1.43	-0.39	<b>-1.31</b>	<b>-1.46</b>	-1.64
min	-1.39	-1.53	-1.48	-1.89	-1.23	-1.31	-1.46	-2.14
max	-0.09	3.04	-0.04	1.28	1.25	0.69	0.40	0.22

**Tablica 9.** Geoakumulacijski indeks ( $I_{geo}$ ) izračunat pomoću koncentracija elemenata u uzorcima tla dobivenih analizom i pripadajućih koncentracija elemenata iz Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske te izračunate minimalne (min) i maksimalne (max) koncentracije pojedinih elemenata. Podebljane su najmanja i najveća vrijednost geoakumulacijskog indeksa za svaki element.

	Cd	Co	Cr	Ni	Pb
3/1538	0.12	-0.38	-0.30	<b>0.60</b>	<b>-1.06</b>
3/1544	0.09	-0.87	-0.73	-0.29	-0.55
3/1549	-0.03	<b>-1.23</b>	<b>-1.16</b>	-0.94	-1.06
3/1570	0.34	-0.44	-0.42	-0.36	-0.32
3/1607	1.29	0.18	-0.01	0.59	0.00
3/1647	0.71	<b>0.22</b>	-0.44	0.06	0.43
3/1926	<b>-1.72</b>	0.18	0.13	0.29	-0.69
3/1791	-0.21	-0.16	-0.14	-0.27	0.07
3/1792	1.69	-0.48	-0.70	0.45	-0.30
3/1793	1.15	-0.03	-0.30	0.30	0.12
3/1809	1.40	-1.14	0.22	-0.71	0.57
3/1810	1.68	-0.71	0.73	-0.31	0.63
3/1859	<b>1.76</b>	-0.43	<b>1.22</b>	0.06	<b>0.69</b>
3/1860	-0.64	-1.13	-1.12	<b>-1.16</b>	-0.30
min	-1.72	-1.23	-1.16	-1.16	-1.06
max	1.76	0.22	1.22	0.60	0.69

**Tablica 10.** Indeks zagađenja tla (PI) izračunat temeljem koncentracija elemenata u uzorcima tla dobivenih analizom i pripadajućih koncentracija elemenata iz Geokemijskog atlasa Europe te izračunate minimalne (min) i maksimalne (max) koncentracije pojedinih elemenata. Podebljane su najmanja i najveća vrijednost PI za svaki element.

	Bi	Cd	Co	Cr	Ni	Pb	Sn	Tl
3/1538	0.83	1.77	0.83	0.92	1.24	1.01	0.89	0.66
3/1544	0.89	1.73	0.59	0.55	0.67	1.44	0.86	0.76
3/1549	0.80	1.59	<b>0.54</b>	<b>0.41</b>	<b>0.64</b>	1.30	0.80	0.87
3/1570	0.62	5.43	0.90	1.12	1.74	1.26	0.84	0.89
3/1607	0.94	3.97	0.88	1.94	2.55	1.18	<b>1.98</b>	0.90
3/1647	0.76	3.50	1.27	0.88	1.13	2.12	1.29	<b>1.75</b>
3/1926	<b>0.57</b>	1.57	1.38	1.72	3.13	0.93	0.80	<b>0.34</b>
3/1791	1.27	2.81	1.09	1.42	1.40	2.20	1.28	1.32
3/1792	1.09	5.24	0.87	0.97	2.32	1.71	1.05	1.22
3/1793	<b>1.41</b>	3.61	1.19	1.27	2.08	2.29	1.29	1.42
3/1809	0.66	9.62	0.89	1.82	2.09	2.23	1.08	0.99
3/1810	0.84	11.73	1.20	2.60	2.76	2.32	1.34	1.25
3/1859	1.19	<b>12.37</b>	<b>1.46</b>	<b>3.65</b>	<b>3.57</b>	<b>2.42</b>	1.15	1.44
3/1860	0.69	<b>0.52</b>	0.56	0.56	1.14	<b>0.61</b>	<b>0.54</b>	0.48
min	0.57	0.52	0.54	0.41	0.64	0.61	0.54	0.34
max	1.41	12.37	1.46	3.65	3.57	2.42	1.98	1.75

**Tablica 11.** Indeks zagađenja tla (PI) izračunat temeljem koncentracija elemenata u uzorcima tla dobivenih analizom i pripadajućih koncentracija elemenata iz Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske te izračunate minimalne (min) i maksimalne (max) koncentracije pojedinih elemenata. Podebljane su najmanja i najveća vrijednost PI za svaki element.

	Cd	Co	Cr	Ni	Pb
3/1538	1.63	1.15	1.22	<b>2.27</b>	<b>0.72</b>
3/1544	1.59	0.82	0.90	1.23	1.03
3/1549	1.47	<b>0.64</b>	<b>0.67</b>	0.78	0.72
3/1570	1.90	1.10	1.12	1.17	1.20
3/1607	3.67	1.70	1.49	2.26	1.50
3/1647	2.45	<b>1.75</b>	1.10	1.56	2.02
3/1926	<b>0.45</b>	1.70	1.65	1.84	0.93
3/1791	1.29	1.35	1.36	1.24	1.57
3/1792	4.83	1.07	0.93	2.05	1.22
3/1793	3.33	1.47	1.21	1.84	1.63
3/1809	3.95	0.68	1.74	0.92	2.23
3/1810	4.82	0.92	2.48	1.21	2.32
3/1859	<b>5.09</b>	1.11	<b>3.49</b>	1.56	<b>2.42</b>
3/1860	0.96	0.69	0.69	<b>0.67</b>	1.22
min	0.45	0.64	0.67	0.67	0.72
max	5.09	1.75	3.49	2.27	2.42

## 5. DISKUSIJA

### 5.1. Ukupna koncentracija elemenata u prikupljenim uzorcima

Tlo je glavni izvor nutrijenata i elemenata za žive organizme, a ponekad je na određenom području moguća visoka koncentracija teških metala koji se smatraju onečišćujućom tvari, ako nema dokaza o štetnom djelovanju (Nuralykyzy i sur., 2021). Teški metali ne mogu se razgraditi prirodnim procesima zbog čega dolazi do akumulacije u supstratima i tlima (Nuralykyzy i sur., 2021). Ujedno se smanjuje kvaliteta tla i to može rezultirati akumulacijom teških metala u organizmima koji nastanjuju to područje (Nuralykyzy i sur., 2021). Visoke koncentracije teških metala u tlu mogu biti prirodno prisutne na određenom području zbog sastava geološke podloge ili se pojavljuju kao posljedica antropogenog djelovanja (Enuneku i sur., 2020, Nuralykyzy i sur., 2021).

Budući da je poznato da tartufi, kao i sve vrste gljiva, imaju sposobnost akumulacije visokih koncentracija metala i teških metala iz supstrata na kojem rastu (Ivanić i sur., 2021, Nuralykyzy i sur., 2021), može se očekivati visoka koncentracija teških metala u uzorcima tartufa ako je izmjerena visoka koncentracija istih teških metala u uzorcima tla i u uzorcima kore drveta. Stoga je od velikog značaja promotriti razine metala ne samo u uzorcima tartufa, već i u obližnjem tlu kako bi se moglo zaključiti o utjecaju na zdravlje uslijed njihove konzumacije.

U uzorcima tla izmjerena je najveća koncentracija Cr, nakon čega po zatupljenosti slijede Ni i Pb. U uzorcima tartufa izmjerena je najveća koncentracija za Cr za većinu uzetih uzoraka, osim za uzorke s lokacije 3/1926, 3/1791, 3/1792, 3/1793 i 3/1809 u kojima su najveće koncentracije izmjerene za Cd te uzorak s lokacije 3/1647 u kojem je izmjerena najveća koncentracija za Ni. Za većinu uzoraka tartufa nakon Cr izmjerene su visoke koncentracije za Ni i Cd. U uzorcima kore drveta najveća koncentracija izmjerena je za Ni za gotovo sve uzorke. Iznimke su uzorci s lokacije 3/1607, 3/1809, 3/1859 i 3/1860 kod kojih je, od izmjerenih elemenata, Cr prisutan u najvećoj koncentraciji.

U uzorcima tla najmanje koncentracije izmjerene su za Bi, jedina iznimka je uzorak s lokacije 3/1860 kod kojeg je izmjerena najmanja koncentracija za Cd. Nakon Bi, niske koncentracije u uzorcima tla izmjerene su za Tl. U svim uzorcima tartufa Bi je prisutan u najmanjim koncentracijama, a isto je izmjereno i kod uzoraka kore drveta.

Izmjerene koncentracije elemenata u uzorcima tla i u pripadajućim uzorcima kore drveta uglavnom su u pozitivnoj korelaciji s izmjerenim koncentracijama elemenata u uzorcima

tartufa. Dakle, na lokalitetima na kojima su izmjerene visoke koncentracije određenog teškog metala u uzorcima tla, također su izmjerene visoke koncentracije istih metala u uzorcima tartufa i uzorcima kore drveta. Iznimka je u slučaju Cd, čija je koncentracija u uzorcima tla i uzorcima kore drveta među najmanjim, dok su u uzorcima tartufa izmjerene koncentracije Cd veće od  $1 \text{ mg kg}^{-1}$ , osim uzorak s lokacije 3/1538 s koncentracijom od  $0,204 \text{ mg kg}^{-1}$ . Kako bi se zaključilo o mogućim negativnim učincima izmjerenih koncentracija Cd potrebno je izračunati bioakumulacijski faktor.

Ivanić i sur. (2021) u svom radu naglašavaju da gljive akumuliraju teške metale te da metali poput Pb i Cd već u niskim koncentracijama mogu imati negativne učinke na zdravlje prilikom konzumacije. Iako su gotovo sve izmjerene koncentracije Pb među najnižim za sve tipove uzoraka, to ne znači da su izmjerene koncentracije u prihvatljivim granicama. Potrebni su dodatni izračuni kojima bi se moglo zaključiti o izmjerenim koncentracijama za Pb. Od uzoraka tartufa veće koncentracije Pb su izmjerene za uzorak s lokacije 3/1647 kojem je izmjerena koncentracija od  $5,95 \text{ mg kg}^{-1}$  i uzorak s lokacije 3/1570 s koncentracijom od  $4,61 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Koeficijenti varijacije iznad 50% upućuju na veliku varijabilnost uzoraka za određeni element. U uzorcima tla jedino je za Cd i Cr izračunat koeficijent varijacije iznad 50%, odnosno 71,2% za Cd i 55% za Cr. Svi uzorci tartufa i kore drveta za sve ispitane teške metale pokazuju koeficijent varijacije veći od 50%, što ukazuje na veliku varijabilnost uzoraka za sve ispitane metale. Najveći koeficijent varijacije za uzorke tartufa izračunat za Ni (115%) podudara se s velikim koeficijentom varijacije za uzorke kore drveta za isti element (136%).

## 5.2. Bioakumulacijski faktor

Visoka koncentracija metala u gljivama posljedica je bioakumulacije, odnosno pozitivnog mehanizma prijenosa istih metala koji se nalaze u supstratu i tlu do organizma (Michelot i sur., 1998).

Za gotovo sve mjerene metale (Bi, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl) bioakumulacijski faktor je manji od 1, zbog čega se može zaključiti da je akumulacija tih metala relativno mala. Iznimno je bioakumulacijski faktor za Cd veći od 1 za gotovo sve uzorke, osim za uzorak tartufa 3/1538 čiji je bioakumulacijski faktor 0,139. Najveći bioakumulacijski faktor od 11,4 izračunat je za uzorak s lokacije 3/1860, pri čemu je potrebno napomenuti da je za pripadajući uzorak tla izmjerena najmanja koncentracija za Cd te ujedno i minimalna koncentracija za sve metale svih

uzetih uzoraka tla. Prema Ivanić i sur. (2021) bioakumulacija Cd ovisi o vrsti uzorkovane gljive i/ili lokaciji uzorkovanja. Ivanić i sur. (2021) u svom radu navode da urbano onečišćenje, kao što je neposredna blizina prometnica, može utjecati na povećane koncentracije Cd u gljivama. Kako bi se zaključilo radi li se o hiperakumulaciji Cd iz tla potrebno je izračunati geokumulacijski indeks korištenjem pozadinskih geokemijskih vrijednosti iz Geokemijskih atlasa.

Najmanji bioakumulacijski faktor izračunat je za Bi, što je bilo očekivano budući da su za Bi izmjerene najmanje koncentracije za sve uzorke tla i tartufa.

### 5.3. Geoakumulacijski indeks

Da bi se mogla procjenjivati kvaliteta tla i da bi se spriječila degradacija tla zbog sve veće akumulacije teških metala potrebno je poznavati geokemijski sastav tla i geološke podloge te pozadinske geokemijske vrijednosti teških metala (Kowalska i sur., 2018). Osim samog kemijskog sastava, nužno je poznavati i svojstva tla kako bi se što točnije procijenio stupanj onečišćenja tla (Kowalska i sur., 2018). Geoakumulacijski indeks ( $I_{geo}$ ) je samo jedan od mnogih indeksa kojim se omogućava procjena zagađenja tla gledajući svaki metal zasebno (Kowalska i sur., 2018). Osim toga, geoakumulacijski indeks omogućava usporedbu trenutnih i prethodnih onečišćenja tla, vrlo često se koristi, smanjena je mogućnost pogreške zbog litogenetskih procesa dodavanjem konstante u formulu i uz to se u formuli koristi pozadinska geokemijska vrijednost (Kowalska i sur., 2021). Pozadinska geokemijska vrijednost dobiva se geokemijskim testovima i upućuje na koncentracije elemenata u uzorku, no potrebno je razlučiti prirodne koncentracije elemenata od koncentracija uzrokovanih ljudskim djelovanjem (Kicińska i Turek, 2017).

S obzirom na izračunate geoakumulacijske indekse, uzimajući pozadinske vrijednosti Geokemijskog atlasa Europe, istraživana tla mogu se opisati kao tla niske razine onečišćenja za Bi i Co, niske do umjerene razine onečišćenja za Cr, Ni, Pb, Sn i Tl te niske do visoke razine onečišćenja za Cd. S obzirom na izračunate geoakumulacijske indekse, uzimajući pozadinske vrijednosti Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske, istraživana tla mogu se opisati kao tla niske do umjerene razine onečišćenja za Co, Ni i Pb te niske do umjerene razine onečišćenja za Cd i Cr.

#### 5.4. Indeks zagađenja tla

Osim geoakumulacijskog indeksa, koristan je i indeks zagađenja tla (PI), odnosno eng. *Single Pollution Index* koji se također često primjenjuje, jednostavno se računa uz pomoć pozadinske geokemijske vrijednosti i njime se procjenjuje stupanj onečišćenja pojedinim teškim metalom u površinskom sloju tla (Kowalska i sur., 2018). Indeks zagađenja tla ukazuje na teški metal koji predstavlja najveću opasnost od onečišćenja (Kowalska i sur., 2018, Nuralykyzy i sur., 2021).

Izračunati indeksi zagađenja tla za istraživane uzorke tla, uzimajući pozadinske vrijednosti Geokemijskog atlasa Europe, mogu se opisati kao tla niske opasnosti od onečišćenja do umjerene opasnosti od onečišćenja za Bi, Co, Sn i Tl. Za Pb se istraživana tla mogu opisati kao tla niske opasnosti od onečišćenja do srednje opasnosti od onečišćenja, a za Cr i Ni se mogu opisati kao tla niske opasnosti od onečišćenja do značajne opasnosti od onečišćenja. Izračunati indeksi zagađenja tla za istraživane uzorke pokazuju najveće vrijednosti za Cd i ta tla se mogu opisati kao tla niske opasnosti od onečišćenja pa sve do visoke opasnosti od onečišćenja.

Izračunati indeksi zagađenja tla za istraživane uzorke tla, uzimajući pozadinske vrijednosti Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske, mogu se opisati kao tla niske opasnosti od onečišćenja do umjerene opasnosti od onečišćenja za Co, kao tla niske opasnosti od onečišćenja do srednje opasnosti za Cr, Ni i Pb te kao tla niske opasnosti od onečišćenja do visoke opasnosti za Cd.

Najmanje vrijednosti indeksa zagađenja tla za Bi, Co, Sn i Tl podudaraju se s najmanjim vrijednostima izračunatih bioakumulacijskih faktora i geoakumulacijskih indeksa, što se smatra očekivanim. Usporedbom dobivenih podataka računanjem bioakumulacijskog faktora, geoakumulacijskog indeksa i indeksa zagađenja tla, mogu se uočiti najveće vrijednosti za Cd za iste uzorke tla i tartufa.

Iz navedenog se može zaključiti da maksimalne vrijednosti geoakumulacijskog indeksa, koje upućuju na veliki stupanj akumulacije Cd u tlu, i maksimalne vrijednosti indeksa zagađenja tla za Cd, koje upućuju na akumulaciju teških metala u površinskim slojevima tla, utječu na hiperakumulaciju istog elementa na istim lokacijama uzoraka tartufa.

## 6. ZAKLJUČAK

Temeljem dobivenih rezultata moguće je zaključiti sljedeće:

1. U većini uzoraka, uključujući uzorke tla, kore i tartufa, najniže koncentracije zabilježene su za Bi. U tlu su najveće koncentracije izmjerene za Ni ili Cr. U uzorcima kore drveta najveće koncentracije izmjerene su za Ni ili Cr, dok je u uzorcima tartufa Cr prisutan u najvećim koncentracijama, a slijedi ga Ni.
2. Prema navedenom može se zaključiti kako povećana koncentracija metala u uzorcima tla utječe na povećanu koncentraciju istih metala u uzorcima tartufa i obližnjem drvetu. Jedina iznimka navedenog je za Cd, čija je koncentracija na svim lokalitetima za sve uzorke tla i kore drveta među najmanjim, dok isto ne vrijedi za uzorke tartufa.
3. Bioakumulacijski faktor manji je od 1 za gotovo sve mjerene metale (Bi, Co, Cr, Ni, Pb, Sn i Tl), što upućuje na relativno slabu akumulaciju navedenih metala. Jedino je za Cd bioakumulacijski faktor veći od 1 za gotovo sve uzorke, uz iznimku uzorka s lokacije 3/1538.
4. Izračunati geoakumulacijski indeksi opisuju istraživana tla kao tla s niskom razinom onečišćenja za Bi i Co, niskom do umjerenom razinom onečišćenja za Cr, Ni, Pb, Sn i Tl te niskom do visokom razinom onečišćenja za Cd.
5. Najmanje vrijednosti indeksa zagađenja tla izračunate su za Bi, Co, Sn i Tl, što se prema očekivanom podudara s najmanjim vrijednostima bioakumulacijskih faktora i geoakumulacijskih indeksa. Isto tako se mogu uočiti najveće vrijednosti indeksa zagađenja tla za Cd, što je u skladu s dobivenim bioakumulacijskim faktorima i geoakumulacijskim indeksima.
6. Dobiveni rezultati upućuju na izrazitu varijabilnost u geokemijskom sastavu istraživanih tala i tartufa koji u njima rastu, kao i okolnog drveća. Pri tome, na pojedinim lokacijama postoji veliko opterećenje pojedinim teškim metalima što se očituje u njihovim povišenim koncentracije u tartufima i kori drveća.
7. Sve navedeno upućuje na nužnost ispitivanja razine metala u tartufima koji se koriste za konzumaciju, kao i u supstratu na kojem rastu, kako bi se smanjili rizici po zdravlje ljudi.



## 7. LITERATURA

Bellettini, M. B., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Teixeira, G. L., Ávila, S., Hornung, P. S., Júnior, A. M., Ribani, R. H., 2016: Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp., *Saudi Journal of Biological Sciences* 26, 633-646

Bonet, J. A., Egli, S., Krisai-Greilhuber, I., Bouriaud, L., Castaño, C., Colinas, C., de-Miguel, S., Grebenc, T., Keca, Lj., Keca, N., Latorre, J., Louro, R., Martín-Pinto, P., Martínez de Aragón, J., Martínez-Peña, F., Oliveira, P., Oria-de-Rueda, J. A., Pla, T., Santos-Silva, C., Stara, K., Tomao, A., Urban, A., Vidale, E., Zgrablic, Ž., 2020: Mushrooms & Truffles, in: Vacik, H., Hale, M., Spiecker, H., Petternella, D., Tome, M. (eds.): *Non-wood Forest Products in Europe, Ecology and management of mushrooms, tree products, understory plants and animal products*, Outcomes of the COST Action FP1203 on European NWFPs, BoD, Norderstedt, 213-261

Bonito, G., Smith, M. E., Nowak, M., Healy, R. A., Guevara, G., Cázares, E., Kinoshita, A., Nouhra, E. R., Domínguez, L. S., Tedersoo, L., Murat, C., Wang, Y., Moreno, B. A., Pfister, D. H., Nara, K., Zambonelli, A., Trappe, J. M., Vilgalys, R., 2013: Historical Biogeography and Diversification of Truffles in the *Tuberaceae* and Their Newly Identified Southern Hemisphere Sister Lineage, *PLoS ONE* 8 (1), e52765, 1-15

Chauhan, O. P., Vijay, V., Pandey, A. K., Semwal, A. D., 2021: Biochemical and Health Properties of Truffles, *Defence Life Science Journal* 6 (2), 251-258, DOI: 10.14429/dlsj.6.15659

Culleré, L., Ferreira, V., Chevret, B., Venturini, M. E., Sánchez-Gimeno, A. C., Blanco, D., 2010: Characterisation of aroma active compounds in black truffles (*Tuber melanosporum*) and summer truffles (*Tuber aestivum*) by gas chromatography–olfactometry, *Food Chemistry* 122, 300-306

Enuneku, A. A., Abhulimen, P. I., Isibor, P. O., Asemota, C. O., Okpara, B., Imoobe, T. O., Ezemonye, L. I., 2020: Interactions of trace metals with bacteria and fungi in selected agricultural soils of Egbema Kingdom, Warri North, Delta state, Nigeria, *Heylion* 6, e04477, 1-10

Fiket, Ž., Medunić, G., Furdek Turk, M., Ivanić, M., Kniewald, G., 2017: Influence of soil characteristics on rare earth fingerprints in mosses and mushrooms: Example of a pristine temperate rainforest (Slavonia, Croatia), *Chemosphere* 179, 92-100

Garcia-Barreda, S., Sánchez, S., Marco, P., Niccolò Benucci, G. M., González, V., 2021: Lack of Linkages among Fruiting Depth, Weight, and Maturity in Irrigated Truffle Fungi

Marks the Complexity of Relationships among Morphogenic Stages, *Journal of Fungi* 7, 102, 1-16

Halamić, J., Miko, S., 2009: Geokemijski atlas Republike Hrvatske, *Hrvatski geološki institut*, Zagreb, 1-87

Hilszczańska, D., Szmidla, H., Sikora, K., Rosa-Gruszecka, A., 2019: Soil Properties Conductive to the Formation of *Tuber aestivum* Vitt. Fruiting Bodies, *Pol. J. Environ. Stud.* 28 (3), 1713-1718

Ivanić, M., Fiket, Ž., Medunić, G., Furdek Turk, M., Marović, G., Senčar, J., Kniewald, G., 2018: Multi-element composition of soil, mosses and mushrooms and assessment of natural and artificial radioactivity of a pristine temperate rainforest system (Slavonia, Croatia), *Chemosphere* 215, 668-677

Ivanić, M., Furdek Turk, M., Tkalčec, Z., Fiket, Ž., Mešić, A., 2021: Distribution and Origin of Major, Trace and Rare Earth Elements in Wild Edible Mushrooms: Urban vs. Forest Area, *Journal of Fungi* 7, 1068, 1-18

Jaillard, B., Barry-Etienne, D., Colinas, C., de Miguel, A.-M., Genola, L., Libre, A., Neveu, P., Oliach, D., Saenz, W., Saez, M., Salducci, X., Souche, G., Sourzat, P., Villeneuve, M., 2014: Alkalinity and structure of soils determine the truffle production in the Pyrenean Regions, *Forest Systems* 23 (2), 364-377

Kalač, P., Svoboda, L., 2000: A review of trace element concentrations in edible mushrooms, *Food Chemistry* 69, 273-281

Kicińska, A., Turek, K., 2017: Establishing geochemical background of elements present in soil and its application in the evaluation of soil pollution based on data collected in the Beskid Sądecki region, *Geoinformatica Polonica* 16: 2017, 88-99, DOI 10.4467/21995923GP.17.007.7194

Kowalska, J. B., Mazurek, R., Gašiorek, M., Zaleski, T., 2018: Pollution indices as useful tools for the comprehensive evaluation of the degree of soil contamination—A review, *Environ Geochem Health* (2018) 40, 2395–2420

Leonardi, M., Iotti, M., Pacioni, G., Hall, I. R., Zambonelli, A., 2021: Truffles: Biodiversity, Ecological Significances, and Biotechnological Applications, in: Abdel-Azeem, A., Yadav, A. N., Yadav, N., Usmani, Z. (eds.): *Industrially Important Fungi for Sustainable Development, Volume 1: Biodiversity and Ecological Perspectives*, Springer, 107-146

Lee, C.-Y., Park, J.-E., Kim, B.-B., Kim, S.-M., Ro, H.-S., 2009: Determination of Mineral Components in the Cultivation Substrates of Edible Mushrooms and Their Uptake into Fruiting Bodies, *Mycobiology* 37 (2), 109-113

Liu, T., Feng, T., Chen, W., 2017: Identification of Volatile Flavour Components of *Tuber melanosporum* Using Simultaneous Distillation-Extraction, *Czech J. Food Sci.* 35 (6), 483-487

Mallikarjuna, S. E., Ranjini, A., Haware, D. J., Vijayalakshmi, M. R., Shashirekha, M. N., Rajarathnam, S., 2012: Mineral Composition of Four Edible Mushrooms, *Journal of Chemistry* 2013, 1-6

Michelot, D., Siobud, E., Dore, J. C., Viel, C., Poirier, F., 1998: Update of metal content profiles in mushrooms-toxicological implications and tentative approach to the mechanisms of bioaccumulation., *Toxicon* 1998, 36, 1997–2012

Moura, P. L. C., Maihara, V. A., de Castro, L. P., Figueira, R. C. L., 2007: Essential trace elements in edible mushrooms by neutron activation analysis, *INAC* 2007, 1-6

Napoli, C., Mello, A., Borra, A., Vizzini, A., Sourzat, P., Bonfante, P., 2010: *Tuber melanosporum*, when dominant, affects fungal dynamics in truffle grounds, *New Phytologist* 185, 237-247

Nuralykyzy, B., Wang, P., Deng, X., An, S., Huang, Y., 2021: Heavy metal contents and assessment of soil contamination in different land-use types in the Qaidam Basin, *Sustainability* 2021, 13, 12020

Rosbach, M., Stieghorst, C., Polkowska-Motrenko, H., Chajduk, E., Samczyński, Z., Pyszynska, M., Zuba, I., Honstraß, D., Schmidt, S., 2019: Elemental analysis of summer truffles *Tuber aestivum* from Germany, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 320, 475-483

Siwulski, M., Rzymiski, P., Budka, A., Kalač, P., Budzyńska, S., Dawidowicz, L., Hajduk, E., Kozak, L., Budzulak, J., Sobieralski, K., Niedzielski, P., 2019: The effect of different substrates on the growth of six cultivated mushroom species and composition of macro and trace elements in their fruiting bodies, *European Food Research and Technology* 245, 419-431

Splivallo, R., Ottonello, S., Mello, A., Karlovsky, P., 2011: Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis, *New Phytologist* 189, 688-699

Svoboda, L., Chrastný, V., 2008: Levels of eight trace elements in edible mushrooms from rural area, in: *Food Additives & Contaminants: Part A*, Taylor & Francis, 51-58

Širić, I., Mihaljević, M., Grgić, I., Kos, I., 2017: Akumulacija kadmija i žive u jestivim saprotrofnim i ektomikoriznim gljivama, *Glasnik zaštite bilja* 5, 50-58

Širić, I., Širol, S., 2019: Mogućnosti uzgoja tartufa (*Tuber spp.*), *Glasnik zaštite bilja* 6, 38-47

Thomas, P., Elkhateeb, W., Daba, G., 2021: Industrial Applications of Truffles and Truffle-like Fungi, in: Sridhar, K. R., Deshmukh, S. K. (eds.): *Advances in Macrofungi: Industrial Avenues and Prospects*, CRS Press, Taylor & Francis Group, 82-88

Tikvić, I., Ugarković, D., Zečić, Ž., Korijan, P., Gašpar, D., 2017: Prirodna nalazišta tartufa u Hrvatskoj i ekološki problemi njihovog razvoja, *Šumarski list* 5-6, 263-269

Walker, G. M., White, N. A., 2017: Introduction to Fungal Physiology, in: Kavanagh, K. (Editor): *Fungi Biology and Applications*, Wiley Blackwell, 1-35

Wang, S., Marcone, M. F., 2011: The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles, *Food Research International* 44, 2567-2581

Webster, J., Weber, R. W. S., 2007: *Introduction to Fungi*, Cambridge University Press

Zhang, X., Li, X., Ye, L., Huang, Y., Kang, Z., Zhang, B., Zhang, X., 2020: Colonization by *Tuber melanosporum* and *Tuber indicum* affects the growth of *Pinus armandii* and *phoD* alkaline phosphatase encoding bacterial community in the rhizosphere, *Microbiological Research* 239, 1-13

Internetski izvori:

URL: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2021\\_03\\_27\\_588.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2021_03_27_588.html) (pristupljeno 31.3.2022.)

URL: <http://www.gtk.fi/publ/foregsatlas/> (pristupljeno 2.5.2022.)