Utjecaj svojstva tla na kemizam plodišta ljetnog tartufa (Tuber aestivum)

Stanić, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:280135

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Ivana Stanić

Utjecaj obilježja tla na kemizam plodišta ljetnog tartufa (*Tuber aestivum*)

Diplomski rad

Zagreb, 2021.

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Ivana Stanić

Utjecaj obilježja tla na kemizam plodišta ljetnog tartufa (*Tuber aestivum*)

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

Zagreb, 2021.

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

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

Utjecaj obilježja tla na kemizam plodišta ljetnog tartufa (*Tuber aestivum*)

Ivana Stanić

Rad je izrađen: Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb

Gljive zauzimaju važnu ulogu u ljudskoj prehrani, dok su neke, poput tartufa, i vrlo cijenjena gastronomska namirnica visoke komercijalne vrijednosti. Ljetni tartuf (*Tuber aestivum*) široko je rasprostranjen na području Hrvatske, gdje uspijeva na različitim staništima. Mikorizne gljive poput tartufa opskrbljuju simbiotsku biljku mineralnim tvarima i vodom te akumuliraju metale sprečavajući njihov prijelaz u biljku. Kako bi se istražio utjecaj geokemijskih značajki tla na elementni sastav tartufa u ovom radu je, primjenom tehnike spektrometrije masa uz induktivno spregnutu plazmu, analizirana koncentracija 12 elemenata (Al, Ca, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, P, S i Zn) u uzorcima tla i ljetnog tartufa sa 13 lokaliteta na području Hrvatske. Dodatno, analizirana je i kora simbiotskih biljaka s ciljem istraživanja raspodjele elemenata u mikoriznom sustavu. Uz elementni sastav, u tlima je određen i kapacitet kationske izmjene (CEC) i vrijednost pH koji nisu pokazali statistički značajnu korelaciju s koncentracijama elemenata u tartufima. Bioakumulacijski potencijal tartufa utvrđen je za nutrijente K, P i S te mikroelemente Cu i Zn na različitim tipovima tla s različitim biljnim partnerima. Koncentracije Al, Fe i Mn u nekim uzorcima tartufa više su od preporučenog maksimalnog dnevnog unosa tih elemenata te je potrebno uzeti u obzir potencijal tartufa kao izvor metala u prehrani čovjeka.

Ključne riječi: multielementna analiza, bioakumulacijski potencijal, kapacitet kationske izmjene, pH-vrijednost

Rad sadrži: 55 + VI stranica, 7 slika, 9 tablica, 80 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Voditelji: dr. sc. Gordana Medunić, redoviti profesor

dr. sc. Maja Ivanić, znanstveni suradnik

Ocjenjivači: dr. sc. Gordana Medunić, redoviti profesor

dr. sc. Jasenka Sremac, redoviti profesor

dr. sc. Željka Vidaković-Cifrek, izvanredni profesor

dr. sc. Nenad Buzjak, redoviti profesor

Rad prihvaćen: 12.03.2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Master Thesis

Influence of soil properties on chemical composition of summer truffle (*Tuber aestivum*)

Ivana Stanić

Thesis completed in: Ruđer Bošković Institute, Bijenička 54, 10000 Zagreb

Mushrooms have an important role in the human diet and some, such as truffles, are prized for their specific aroma and are of high commercial value. Summer truffle (*Tuber aestivum*) is widespread in Croatia where it thrives in various habitats. Mycorrhizal fungi such as truffles, supply the symbotic plant with minerals and water while also accumulating metals to prevent their transition into the symbiotic plant. In order to investigate the influence of soil properties on chemical composition of truffles, the concentrations of 12 elements (Al, Ca, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, P, S and Zn) were determined in soil and truffle samples from 13 locations in Croatia by HR-ICP mass spectrometry. Also, with the aim to investigate the distribution of elements in the mycorrhizal system, elemental composition of the bark of symbiotic plants was analyzed. In addition, the cation exchange capacity (CEC) and pH of the soil samples were determined but showed no statistically significant correlation with the concentrations of elements in truffles. Bioaccumulation in truffles was determined for nutrients K, P and S and trace elements Cu and Zn on different soil types with different plant partners. In some truffle samples, concentrations of Al, Fe and Mn were higher than the recommended tolerable daily intake of these elements which shows the potential of truffles to be the source of metals in human nutrition.

Key words: multi-element analysis, bioaccumulation, cation exchange capacity, pH

Thesis contains: 55 + VI pages, 7 figures, 9 tables, 80 references

Original in: Croatian

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

Supervisors: Gordana Medunić, PhD, Full Professor, PMF

Maja Ivanić, PhD, Research associate, IRB

Reviewers: Gordana Medunić, PhD, Full Professor, PMF

Jasenka Sremac, PhD, Full Professor, PMF

Željka Vidaković-Cifrek, Associate Professor, PMF

Nenad Buzjak, Full Professor, PMF

Thesis accepted: 12.03.2021.

Sadržaj

1. UVOD 1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA 4
2.1. Morfologija i biologija tartufa 4
2.2. Obilježja mikorize tartufa 5
2.3. Rasprostranjenost i ekološki uvjeti tartufa 6
2.4. Zakonska regulativa u tartufarstvu 8
2.5. Utjecaj značajki tla na elementni sastav gljiva 9
2.5.1. Fizikalno-kemijske i geokemijske značajke tla 9
2.5.2. Elementni sastav tartufa 11
2.6. Pedološka obilježja i šumske biljne zajednice područja uzorkovanja 16
2.7. Multielementna analiza primjenom tehnike ICP-MS 20
3. MATERIJALI I METODE 21
3.1. Područje istraživanja i metode uzorkovanja 21
3.2. Obrada uzoraka za multielementnu analizu 23
3.3. Multielementna analiza 23
3.4. Mjerenje pH-vrijednosti i određivanje kapaciteta kationske izmjene (CEC-a) 24
4. REZULTATI 25
4.1. Koncentracije elemenata u uzorcima tla, kore i tartufa 25
4.1.1. Tlo 25
4.1.2. Tartufi 26
4.1.3. Kora 26
4.2. CEC i pH-vrijednost 33
4.3. Bioakumulacijski potencijal 33
5. RASPRAVA 36
5.1. Geokemijske značajke tla 36
5.1.1. Fizikalno-kemijske značajke tla i njihov utjecaj na elementni sastav tartufa 36
5.1.2. Koncentracije elemenata u tlu 36
5.2. Koncentracije elemenata u tartufima 38
5.3. Koncentracije elemenata u kori 39
5.4. Raspodjela elemenata u mikoriznom sustavu 40
6. ZAKLJUČAK 45
7. LITERATURA 46

1. UVOD

Gljive (Fungi, Mycota) su skupina eukariotskih organizama koji čine zasebno carstvo. Prema Willis (2018) do sada je opisano i klasificirano oko 150000 vrsta gljiva, a pretpostavljeni broj neopisanih vrsta je u milijunima. Procjenjuje se da u Hrvatskoj ima oko 20000 vrsta gljiva, ali ih je, zbog slabe mikološke istraženosti, trenutno zabilježeno manje od 25% (Tkalčec i sur., 2008). Iz tog je razloga Hrvatsko mikološko društvo 1999. godine započelo projekt inventarizacije i kartiranja gljiva Hrvatske (Bioraznolikost gljiva Hrvatske), s ciljem utvrđivanja svih vrsta gljiva ovog područja, njihovu vezu s okolišem te rasprostranjenost (http://mycolsoc.hr/).

Gljive su heterotrofni organizmi koji prema načinu života mogu biti simbionti, saprotrofi i paraziti. Simbiotski odnos gljiva i vaskularnih biljaka naziva se mikoriza (grč. *mykes* – gljiva, *rhiza* - korijen). Mikorizne gljive, kojima pripadaju i tartufi, iz tla apsorbiraju mineralne tvari (prvenstveno fosfor i dušik) i vodu kojima opskrbljuju biljku s kojom su u simbiozi, dok biljka gljivi osigurava stanište i produkte fotosinteze (ugljikohidrate). Šumske drvenaste biljke pokazuju 2-3 puta veću apsorpciju mineralnih tvari poput fosfora, dušika i kalija u prisutnosti mikoriznih gljiva (Smith i Read, 2008). Mobilnost kalcija, magnezija i željeza prema biljci također je veća u prisustvu mikoriznih gljiva (Watkinson i sur., 2015). Uz razgradnju organske tvari iz površinskog horizonta tla, gljive mogu nutrijente uzimati i iz teško topivih minerala sekrecijom organskih kiselina ili fizičkim prodiranjem u stijene u dubljem, mineralnom horizontu tla (Watkinson i sur., 2015). Time svojim biljnim simbiontima omogućuju opskrbu mineralnim tvarima i na kiselim, plitkim ili nutrijentima siromašnim tlima (Watkinson i sur., 2015). Osim poboljšane prehrane, biljke u mikoriznom odnosu pokazuju i veću toleranciju na teške metale i sušne uvjete. Primjerice, neke vrste šumskog drveća mogu živjeti na tlima s visokim koncentracijama cinka, bakra i aluminija (Smith i Read, 2008; Weil i Brady, 2017), koje mikorizne gljive akumuliraju, sprečavajući njihov prijelaz u simbiotsku biljku (Kalač, 2010). Mikorizne gljive imaju različite mehanizme kojima održavaju homeostazu i optimalnu koncentraciju mikronutrijenata u stanici (Bolchi i sur., 2011). Najvažnija ekološka uloga saprotrofnih gljiva je razgradnja mrtve organske tvari do anorganskih komponenata koje biljke mogu ponovo koristiti u sintezi organske tvari (fotosinteza), čime je omogućeno kruženje elemenata u biosferi. Osobito su važne u šumskim ekosustavima gdje su odgovorne za razgradnju biljnih ostataka tj. lignina. Parazitske gljive

crpe hranjive tvari iz biljaka, životinja, ljudi ili drugih gljiva, uzrokujući bolesti, a neke su čak predatori mikroskopskih životinja i praživotinja (Tkalčec i sur., 2008).

Zbog nutritivnih vrijednosti gljive imaju važnu ulogu u prehrani mnogih životinja i čovjeka. Vrlo su cijenjena prehrambena namirnica koja sadrži visok udio vode, proteina, vitamina, minerala i vlakana te nizak udio masti (Falandysz i Borovička, 2012; Saritha i sur., 2016). Među jestivim gljivama tartufi se ističu intenzivnim mirisom, ali i visokim cijenama koje postižu na tržištu (Carris i sur., 2012). Budući da se razvijaju ispod površine tla (hipogejne gljive), manje su uočljivi i teže dostupni u usporedbi s gljivama koje se razvijaju nadzemno (epigejne gljive). Bioaktivni spojevi koje tartufi sadrže imaju brojne zdravstvene dobrobiti; antioksidativna, protuupalna, antimikrobna, antimutagena te afrodizijačka svojstva tartufa dokazana su *in vitro* te *in vivo* (Lee i sur., 2020; Patel i sur., 2017). Iako niti jedna poznata vrsta tartufa nije otrovna, samo neke se smatraju delikatesama, a među njima je i ljetni tartuf (Saritha i sur., 2016).

Tuber aestivum ili ljetni tartuf najraširenija je vrsta tartufa u Europi. Iako je manje aromatičan u usporedbi s cjenjenijim crnim tartufom (*Tuber melanosporum*) i velikim bijelim tartufom (*Tuber magnatum*), brza prilagodba različitim okolišnim uvjetima uzrokovala je porast njegove komercijalne vrijednosti (Gryndler i sur., 2011). U usporedbi s ostalim gljivama, ljetne tartufe karakterizira srednji udio proteina (19,1%), nizak udio masti (2,27%) te visok udio vlakana (22,0%) (Kruzselyi i Vetter, 2014). Imaju karakterističan kemijski sastav u smislu mirisnih komponenti, dok četiri makroelementa (K, P, Ca i Mg) čine 97,9% ukupnog sadržaja minerala (Kruzselyi i Vetter, 2014).

Mehanizam unosa nutrijenata i metala kod gljiva razlikuje se od onoga kod biljaka (Kalač i Svoboda, 2000). Dok je visoka koncentracija metala u biljkama uglavnom povezana s njihovom povišenom koncentracijom u tlu (Kabata-Pendias, 2011), gljive pokazuju sposobnost akumuliranja metala čak i kada su u tlu prisutni u niskim koncentracijama (Falandysz i Borovička, 2012; Kalač i Svoboda, 2000). Kod biljaka se unos elemenata odvija preko sustava korijena, iz tla, te putem lišća, iz atmosfere, dok se kod gljiva atmosfersko taloženje ne smatra značajnim zbog njihovog kratkog nadzemnog životnog vijeka (Falandysz i Borovička, 2012; Ivanić i sur., 2019; Kalač i Svoboda, 2000; Watkinson i sur., 2015) ili potpuno podzemnog načina života, kao kod tartufa. Koncentracija elemenata u gljivama najvećim dijelom ovisi o vrsti gljive, svojstvima elementa te čimbenicima okoliša tj. geokemijskim obilježjima tla (Ivanić i sur., 2019; Kokkoris i sur., 2019). Geokemijske značajke tla koje utječu na unos elemenata u gljive su pH-vrijednost tla, mineralni sastav te udio organske tvari (Kokkoris i sur., 2019). Zbog razlike u geokemijskim značajkama različitih tipova tla, može se očekivati da će

u istoj vrsti gljiva određeni elementi biti prisutni u različitim koncentracijama. U posljednje vrijeme zanimanje za ovu temu je u porastu, što je rezultiralo istraživanjima elementnog sastava različitih vrsta jestivih gljiva (Fiket i sur., 2017; Ivanić i sur., 2019; Kokkoris i sur., 2019). Dok je elementni sastav ljetnog tartufa istražen u radovima Kruzselyi i Vetter (2014), Rossbach i sur. (2019) te Gregorčić i sur. (2020), utjecaj geokemijskih značajki tla na unos elemenata u ljetni tartuf je zanemaren. S obzirom na široku rasprostranjenost ljetnog tartufa u Hrvatskoj, kao i rastu na vrlo različitim tipovima podloga, ovo istraživanje pridonijet će razumijevanju utjecaja geokemijskih značajki tla na elementni sastav ljetnog tartufa. Zbog popularnosti ljetnog tartufa u prehrani, definiranje njegovog elementnog sastava presudno je za određivanje mogućeg negativnog utjecaja na zdravlje čovjeka.

Cilj ovog rada je odrediti (i) koncentracije odabranih elemenata u uzorcima tartufa, pripadajućeg tla i kore simbiotskog drva te (ii) svojstva tla (pH-vrijednost i kapacitet kationske izmjene), u svrhu razumijevanja mehanizma unosa elemenata i njihove raspodjele u sustavu gljiva-kora-tlo. U širem smislu, rezultati ovog rada pridonijet će razumijevanju utjecaja fizikalno-kemijskih i geokemijskih značajki tla na koncentracije mikro- i makro-elemenata u plodištima ljetnog tartufa (*Tuber aestivum*) i kore simbiotskog drveća te regionalnu varijabilnost kemijskog sastava i utjecaja pedološke podloge na unos elemenata u različitim biogeografskim regijama na području Hrvatske.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

Gljive su dugo smatrane jednostavnim biljkama te klasificirane kao dio biljnog carstva. Početkom sedamdesetih godina dvadesetog stoljeća prihvaćeno je stajalište da, zbog niza svojstava koja ih razlikuju od biljaka i životinja, gljive čine zasebno carstvo (Tkalčec i sur., 2008). Zbog važne uloge u kruženju tvari u kopnenim ekosustavima, nutritivne vrijednosti i sve veće zastupljenosti u prehrani ljudi, istraživanja gljiva, pa tako i tartufa, su u porastu.

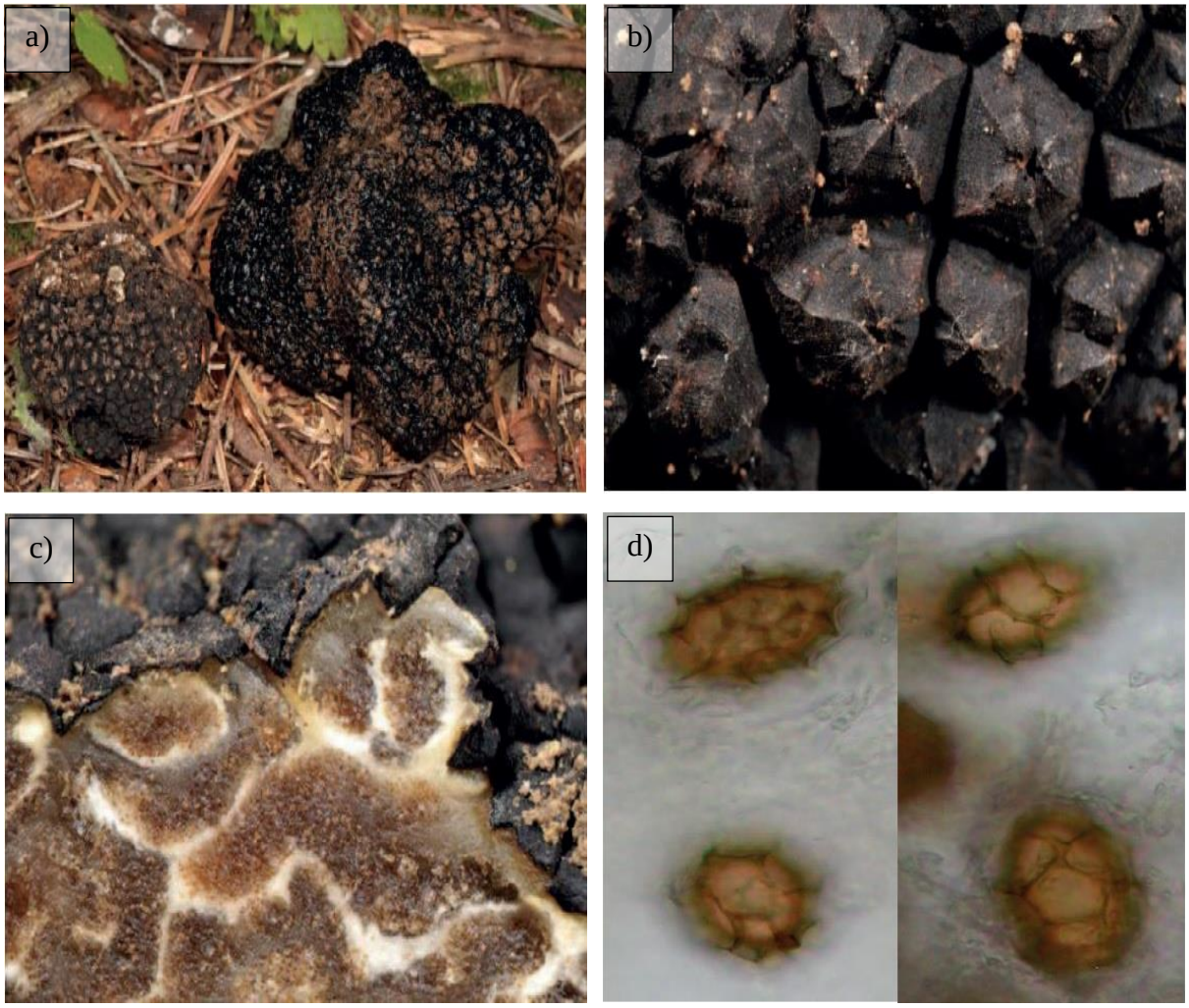
Tuber aestivum Vittad. (1831) ili ljetni tartuf pripada carstvu Fungi (gljive), koljenu Ascomycota (askomiceti), razredu Pezizomycetes (zdjelarice), redu Pezizales (zdjeličarke), porodici Tuberaceae (gomoljače) i rodu *Tuber* (tartufi) (www.mycobank.org; Zgrablić i sur., 2014). Porodica Tuberaceae predstavlja skupinu mikoriznih gljiva koje se razvijaju pod zemljom (Zgrablić i sur., 2014). Tartufe nalazimo u većini šumskih ekosustava Hrvatske, iako njihova rasprostranjenost još nije posve istražena. Dosadašnja istraživanja ljetnog tartufa u Hrvatskoj i svijetu uključuju određivanje njegove rasprostranjenosti (Marjanović i sur., 2010; Molinier i sur., 2016; Tikvić i sur., 2017; Zjalić i sur., 2020), simbiotskih odnosa (Gryndler i sur., 2014; Gryndler, 2016), elementnog sastava (Gregorčić i sur., 2020; Kruzselyi i Vetter, 2014; Rossbach i sur., 2019), ekoloških uvjeta (Gogan i sur., 2012; Hilszczańska i sur., 2019; Moser i sur., 2017; Robin i sur., 2016) te analizu spojeva odgovornih za njihovu specifičnu aromu i zdravstvene dobrobiti (Bellina-Agostinone i sur., 1987; Shah i sur., 2020).

2.1. Morfologija i biologija tartufa

Mnoge gljive imaju višestanično, nitasto, razgranato tijelo koje se naziva micelij. Njega čine spletovi tankih cjevastih stanica, hife. U povoljnim uvjetima micelij razvija plodište na kojem nastaju reproduktivne stanice (spore). Plodište predstavlja dio gljive kojeg ćemo najčešće uočiti u prirodi (Tkalčec i sur., 2008). Plodište tartufa se sastoji od vanjskog dijela (pokožica ili peridium) i unutarnjeg dijela (gleba). Tartufi se međusobno razlikuju prema boji i obilježjima površine pokožice, boji i nervaturi glebe te obliku i veličini spora (Molinier i sur., 2016).

Ljetni tartuf (Slika 1) karakterizira plodište crne boje, prosječnog promjera od 2 do 9 cm. Često je okruglo, ali može biti i nepravilnog gomoljastog oblika. Pokožica je građena od debelih i tvrdih struktura piramidalnog oblika, dok je gleba čvrsta, svijetlosmeđe do smeđe boje, ispresijecana bijelom sterilnom nervaturom između koje se nalaze askusi, vrećaste strukture sa sporama pomoću kojih se tartuf razmnožava. Spore su okruglog do eliptičnog oblika, žutosmeđe boje, na površini mrežaste, veličine 20 – 45 × 18 – 35 µm, dok su askusi

okruglastog oblika, veličine 60 – 110 × 50 – 70 μm. Plodišta karakterizira blag i ugodan miris koji jača izlaganjem zraku (Molinier i sur, 2016; Zgrablić i sur., 2014).



Slika 1. Ljetni tartuf (*Tuber aestivum*) a) plodišta, b) površina pokožice, c) gleba, d) spore (Autor: N. Matočec, preuzeto iz Zgrablić i sur., 2014).

2.2. Obilježja mikorize tartufa

Mikoriza predstavlja obostrano koristan suživot gljive i biljke. Ovakav način života, u kojem dolazi do integracije gljive s korijenom biljke i nastanka nove, morfološki drugačije strukture, razvio se odvojeno kod različitih koljena u carstvu gljiva (Watkinson i sur., 2015). Ovisno o prisutnosti hifa gljive u unutarstaničnom prostoru biljke razlikuju se dva glavna oblika mikorize: endotrofna (endomikoriza) i ektotrofna (ektomikoriza), koju nalazimo kod tartufa. Kod ektomikorize, gljiva prodire u prostor između stanica biljaka, ali ne i u same stanice, formirajući mrežu hifa (Hartigova mreža) preko koje se odvija razmjena nutrijenata (Daguerre i sur., 2016; Smith i Read, 2008; Watkinson i sur., 2015). Ektomikoriza uključuje niz

fizioloških i ekoloških prilagodbi u oba simbiotska partnera. Svaka vrsta tartufa ima široku, ali karakterističnu skupinu biljnih domaćina, dok biljne vrste pokazuju nižu razinu specifičnosti. Tako se na jednom drvetu mogu pronaći desetci vrsta simbiotskih gljiva (Smith i Read, 2008).

Ljetni tartuf razvija simbiotski odnos sa sljedećim vrstama: običnom brezom (*Betula pendula*), običnim grabom (*Carpinus betulus*), lijeskom (*Corylus avellana*), crnim grabom (*Ostrya carpinifol*ia), pitomim kestenom (*Castanea sativa*), običnom bukvom (*Fagus sylvatica*), cerom (*Quercus cerris*), hrastom crnikom (*Quercus ilex*), hrastom kitnjakom (*Quercus petraea*), hrastom meduncem (*Quercus pubescens*), hrastom lužnjakom (*Quercus robur*), malolisnom lipom (*Tilia cordata*), velelisnom lipom (*Tilia platyphyllos*), običnom jelom (*Abies alba*), običnom smrekom (*Picea abies*), topolom (*Populus* spp.), brijestom (*Ulmus* spp.), alepskim borom (*Pinus halepensis*), crnim borom (*Pinus nigra*) i bijelim borom (*Pinus sylvestris*) (Gryndler i sur., 2014; https://hirc.botanic.hr/fcd/). Micelij ljetnog tartufa pronađen je i na površini korijena vrsta koje se ne smatraju domaćinima budući da nema prodora u tkivo biljke (Gryndler i sur., 2014). Ovime se sugerira postojanje dodatnog načina prehrane tartufa te neovisnost micelija o simbiotskom partneru, iako je za stvaranje plodišta neophodna prehrana od strane simbiotske biljke (Gryndler, 2016).

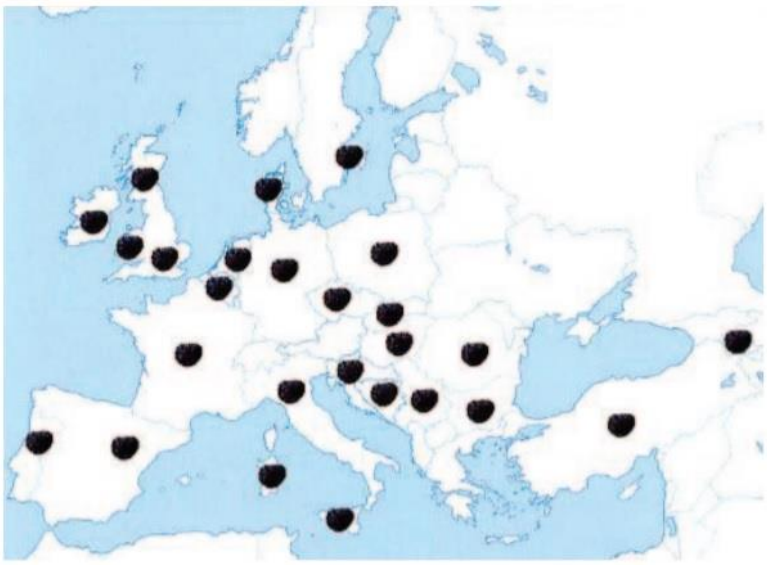
2.3. Rasprostranjenost i ekološki uvjeti tartufa

Tartufi su pronađeni u umjereno toplim do pustinjskim područjima Europe, Azije, Sjeverne i Južne Amerike, Afrike te Australije. U Europi su rasprostranjeni u većini zemalja, iako se pojedine vrste, poput skupocjenih *T. magnatum* i *T. melanosporum*, razvijaju samo u uskom pojasu ekoloških uvjeta (Tikvić i sur., 2017). U Europi je zabilježeno tridesetak vrsta iz roda *Tuber*, a njihova najveća raznolikost je upravo u području Mediterana (Marjanović i sur., 2010).

U svijetu je opisano preko 180 vrsta tartufa (Bonito i sur., 2013 prema Tikvić i sur., 2017), dok je u Hrvatskoj pronađeno nekoliko desetaka vrsta (Božac, 2008). Među njima, komercijalno najzanimljivije vrste u Hrvatskoj su veliki bijeli tartuf (*T. magnatum* Picco), rani tartuf (*T. borchii* Vittad.), crni tartuf (*T. melanosporum* Vittad.), ljetni tartuf (*T. aestivum* Vittad.) te zimski tartuf (*T. brumale* Vittad.) (Božac i sur., 2012a, 2012b; Zgrablić i sur., 2014). U Hrvatskoj su prvi put pronađeni 1929. godine u šumama Istre gdje i danas ima najviše aktivnosti i istraživanja vezanih uz tartufarstvo (Zgrablić i sur., 2014). Poznata nalazišta tartufa u Hrvatskoj su Motovunska šuma, šume Buzeta, Plovanije, Zagreba, Velike Gorice, Kalnika, Siska, Sunje, Kutine, Lipovljana, Donjeg Miholjca, Petrijevaca, Pelješca, Zadra, Bjelovara,

Lipovljana, Nove Gradiške, Slavonskog Broda, Vinkovaca i Vrbanje (Tikvić i sur., 2017; Zjalić i sur., 2020). Najbrojnija nalazišta su u nizinskim i brežuljkastim područjima, iako su pronađeni i u brdskim bukovim šumama (Tikvić i sur., 2017).

Smatra se da je *Tuber aestivum* najrašireniji tartuf u Europi, s nalazištima od Sicilije do južnih dijelova Skandinavije te od Portugala do Turske (Slika 2). Lako se prilagođava različitim uvjetima u tlu te ostvaruje simbiozu s brojnim biljnim vrstama (Tikvić i sur., 2017; Zgrablić i sur., 2014). Može se pronaći na nadmorskim visinama od 0 do 1600 m, na područjima s prosječnom godišnjom temperaturom od 6,8°C do 11,5°C te prosječnom godišnjom količinom padalina od 400 do 1500 mm (Molinier i sur., 2016). Zbog širokog vremenskog okvira sazrijevanja plodišta može ga se pronaći od svibnja do prosinca (Molinier i sur., 2016).



Slika 2. Rasprostranjenost ljetnog tartufa (*Tuber aestivum*) u Europi (preuzeto iz Hall i sur., 2007 prema Tikvić i sur., 2017).

Iako se ljetni tartuf uglavnom nalazi u tlima formiranim na sedimentnim stijenama, pronađen je i na bazičnim vulkanskim supstratima i kvartarnim lesnim i glacijalnim formacijama (Robin i sur., 2016). Odgovaraju mu gotovo sve teksture tla; pronađen je u tlima s širokim rasponom udjela pijeska (2,80 – 79,8%) i silta (9,80 – 67,4%) te niskim do srednjim udjelom glina (5 – 55%) (Robin i sur., 2016). Sposobnost zadržavanja vode u tlima bitna je u sušnim razdobljima, ali jednako bitno je i dobro procjeđivanje jer tlo ne smije biti zasićeno vodom. Dobru strukturu tla pogodnu za razvoj ljetnog tartufa osigurava prisustvo organske tvari i kalcijevog karbonata (Robin i sur., 2016). Odgovara mu raspon pH-vrijednosti tla 5,9 – 8,4, a u većini slučajeva tlo je neutralno ili blago bazično zbog prisutnosti karbonata (Gogan i

sur., 2012; Jaillard i sur., 2014; Robin i sur., 2016). Istraživanja su pokazala da u šumskim staništima ljetnog tartufa količina kalcijevog karbonata u tlu varira od 0 do 55%, što pokazuje da ljetni tartuf, za razliku od velikog bijelog i crnog tartufa, može rasti i razvijati plodišta i u tlima siromašnim karbonatima (Hilszczańska i sur., 2018; Robin i sur., 2016). Udio organske tvari u tlima u kojima je pronađen ljetni tartuf je 0,70 – 21,2%, pri čemu šumska staništa imaju veći udio organske tvari u odnosu na plantaže tartufa (Robin i sur., 2016). Kapacitet kationske izmjene (CEC) tala u kojima je pronađen ljetni tartuf varira od 15 do 45 $cmol_{+}kg^{-1}$ (Robin i sur., 2016).

Uz financijsku korist, tartufi su važan čimbenik turističke i gastronomske promocije nekog područja (Zgrablić i sur., 2014). Zbog njihove velike ekonomske vrijednosti i nedovoljnog prinosa iz prirodnih nalazišta, razvila se potreba kultivacije tartufa. Krajem 20. stoljeća razvijene su različite metode proizvodnje mikoriziranih sadnica koje se koriste za pošumljavanje te za podizanje plantaža tartufa (Zambonelli i sur., 2015). Francuska, Italija i Španjolska prednjače u uzgoju tartufa, a plantažni uzgoj se proširio i na područja na kojima se oni prirodno ne nalaze (Zambonelli i sur., 2015; Zgrablić i sur., 2014). Prinos tartufa mijenja se iz godine u godinu u ovisnosti o vremenskim uvjetima, ali postoji trend pada kao rezultat globalnih klimatskih promjena (Martin, 2011).

2.4. Zakonska regulativa u tartufarstvu

Gljive iz roda *Tuber* spp. na popisu su zavičajnih divljih vrsta za čije je sakupljanje potrebno ishoditi dopuštenje Ministarstva gospodarstva i održivog razvoja, a određeno je Pravilnikom o sakupljanju zavičajnih divljih vrsta (NN 114/2017) Zakona o zaštiti prirode (NN 80/2013; NN 15/2018). Pri sakupljanju podzemnih gljiva propisane su sljedeće mjere: (i) sakupljaju se uz pomoć najviše dva psa, (ii) kopa se samo na mjestu nanjušivanja, (iii) kopa se lopaticom čije sječivo nije duže od 15 cm i šire od 8 cm, (iv) plodišta velikih bijelih tartufa koja nisu veća od 15 mm u promjeru zakapaju se na mjestu vađenja, (v) rupe nastale vađenjem plodišta potrebno je zatrpati iskopanom zemljom, (vi) nije dopušteno kopati rupe promjera većeg od 30 cm, (vii) rupe iskopane istoga dana ne smiju biti na udaljenosti manjoj od 150 cm, (viii) pri iskapanju nije dopušteno presijecati korijenje šumskog raslinja debljeg od 1 cm, (ix) trula i crvljiva plodišta ponovo se zakopavaju na mjestu vađenja te (x) nije dopušteno sakupljati podzemne gljive u razdoblju od 22 do 6 sati.

Kao iznimno vrijedne vrste tartufi su ugroženi nestankom i promjenom stanišnih uvjeta te velikim pritiskom od strane sakupljača. Diljem svijeta dolazi do smanjenja njihove

zastupljenosti u prirodnim staništima što se povezuje s klimatskim promjenama, načinom korištenja zemljišta, intenzivnom poljoprivredom i korištenjem umjetnih gnojiva (Steidinger i sur., 2020; Urban i Pla, 2010; Zgrablić i sur., 2014). Glavni ekološki problemi koji ugrožavaju staništa tartufa u Hrvatskoj su: promjene u vlažnosti šumskog tla, dinamici oborina i temperaturi zraka, onečišćenje zraka, vode i šumskog tla, promjene mikroreljefa nizinskih šuma, promjene fizikalnih, kemijskih i bioloških obilježja šumskih tala te erozija (Tikvić i sur., 2017). Djelovanjem nepovoljnih čimbenika dolazi do sve veće degradacije šumskih tala što utječe na stanje stabala i mikorize na korijenju. Budući da ne postoji organizirano gospodarenje tartufima u Hrvatskoj, dolazi do degradacije staništa te smanjenja količine i kvalitete tartufa (Tikvić i sur., 2017). Uz zakonodavnu regulativu, potrebno je provoditi kontrolu broja i educiranosti sakupljača, načina sakupljanja, broja i obučenosti pasa tartufara te sezone sakupljanja, kontrolu i regulaciju tržišta te održivo upravljanje šumskim staništima (Zgrablić i sur., 2014).

2.5. Utjecaj značajki tla na elementni sastav gljiva

2.5.1. Fizikalno-kemijske i geokemijske značajke tla

Tlo nastaje trošenjem matične stijene pod utjecajem pedogenetskih čimbenika i procesa (Bogunović i sur., 1997). Sastoji se od minerala i organske tvari te vode i plinova koji ispunjavaju pore tla. S vremenom, pod utjecajem klime, reljefa te bioloških i hidrogeoloških procesa, dolazi do diferencijacije različitih slojeva odnosno horizonta tla. Između njih ne postoje oštre granice, a razlikuju se po biološkim, kemijskim i fizikalnim svojstvima, poput teksture, strukture, boje, temperature i poroznosti (Galović, 2009). Najzastupljenija tla u Hrvatskoj su smeđe tlo na vapnencu i dolomitu (17,5% površine Hrvatske), močvarno glejno tlo (12,1%), lesivirano tlo (12,1%), crnica (10,2%) te rendzina (7,76%) (Martinović, 1997 prema Galović, 2009). Gotovo 50% Hrvatske se nalazi na karbonatnoj podlozi koju karakteriziraju alkalna tla većim dijelom nepogodna za obradu te uglavnom pokrivena šumom (Bogunović i Bensa, 2004; Galović, 2009).

Elementi prisutni u tlu mogu biti antropogenog i prirodnog porijekla. Antropogeni elementi u tlo dolaze kao rezultat aktivnosti čovjeka, poput ispusta iz industrija, korištenja pesticida i gnojiva, izgaranja fosilnih goriva i sl. (Kabata-Pendias, 2011). Litogeni elementi vezani su uz trošenje matičnih stijena u podlozi, a ukoliko je njihova koncentracija i raspodjela između slojeva i komponenti tla promijenjena pedogenetskim procesima, nazivaju se pedogenim elementima (Kabata-Pendias, 2011). Elementi se u tlu nalaze u otopljenoj fazi,

slabije ili jače vezani za anorganske i organske površine ili u strukturi primarnih i sekundarnih minerala. U vodenoj otopini elementi se mogu nalaziti kao ioni ili u obliku topivih kompleksa s organskim i anorganskim ligandima. Slobodni ioni u vodenoj otopini u tlu predstavljaju najdostupniji oblik elemenata za biljke i gljive (McLean i Bledsoe, 1992; Sparks, 1995). Koloidne čestice nalaze se u rasponu veličina od 1 nm do 1 µm (McNaught i Wilkinson, 1997) i zbog ključne uloge u prijenosu metala predstavljaju najreaktivnije površine u tlu (McLean i Bledsoe, 1992). Metali vezani za površine koloidnih čestica lako se izmjenjuju ovisno o kemijskim uvjetima u tlu. U tlu su najzastupljeniji oksidi željeza, aluminija i mangana, minerali glina i organski koloidi (McLean i Bledsoe, 1992). Koloidne čestice na svojim površinama imaju pozitivan ili negativan naboj koji, ovisno o porijeklu, može biti strukturni, koji je stalan, ili promjenjiv, koji ovisi o pH-vrijednosti (McLean i Bledsoe, 1992). Naboj na površini balansiran je ionima suprotnog naboja vezanim za površinu koloidnih čestica (McLean i Bledsoe, 1992; Rieuwerts i sur., 1998). U prirodnim okolišima koloidni minerali najčešće se nalaze u organomineralnim kompleksima negativnog naboja (Vukadinović i Vukadinović, 2016). Vezanje kationa na takve površine često se odvija putem slabih elektrostatskih interakcija te se lako izmjenjuju sa sličnim kationima iz okoliša, ovisno o valenciji i radijusu (Rieuwerts i sur., 1998). Kapacitet kationske izmjene (eng. *Cation Exchange Capacity*, CEC) definiran je kao količina izmjenjivih kationa koje tlo može adsorbirati pri određenoj pH-vrijednosti i pokazuje sposobnost tla da zadrži nutrijente, budući da se oni uglavnom pojavljuju kao kationi (McLean i Bledsoe, 1992). Najvažniji izmjenjivi kationi u tlu su Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+}, K^{+}, H^{+} i Al^{3+} (McLean i Bledsoe, 1992). Smatra se da organska tvar najviše doprinosi CEC-u u površinskim slojevima tla, dok povećanjem dubine i smanjenjem njenog udjela, minerali glina postaju važna adsorpcijska površina (McLean i Bledsoe, 1992). Biodostupnost metala najviše ovisi o pH uvjetima u tlu, koji utječu na procese poput specifične adsorpcije, hidrolize metala, precipitacije i kompleksacije. Pri nižoj pH-vrijednosti biodostupnost kationa bit će veća, dok će pri višoj pH-vrijednosti biti manja (Rieuwerts i sur., 1998). Biodostupnost elemenata koji se u tlu nalaze u obliku aniona, poput fosfora i sumpora, povećava se povećanjem pH-vrijednosti tla (Weil i Brady, 2017). Metali koji se nalaze u strukturi minerala relativno su nedostupni biljkama i gljivama i oslobađaju se tek otapanjem minerala. Ponašanje elemenata u tlu i njihova biodostupnost ovise i o njihovom porijeklu. U sličnim uvjetima tla, litogeni i pedogeni elementi su manje mobilni i manje dostupni biljkama i gljivama od antropogenih elemenata (Kabata-Pendias, 2011).

U Tablici 1 navedene su prosječne koncentracije odabranih elemenata u tlima Hrvatske prema Halamić i Peh (2009), u europskim tlima prema Salminen i sur. (2005) te u svjetskim

tlima prema McLean i Bledsoe (1992) i Kabata-Pendias (2011). Uspoređujući podatke iz Tablice 1 vidljivo je da su koncentracije odabranih elemenata u Hrvatskoj slične europskom i svjetskom prosjeku.

Tablica 1. Prosječne koncentracije odabranih elemenata u tlima u mg kg^{-1}, prema navedenim izvorima.

	Halamić i Peh (2009)	**Salminen i sur. (2005)**	**Kabata-Pendias (2011)**	**McLean i Bledsoe (1992)**
Al	69600	105000	-	71000
Ca	21300	35400	-	-
Cu	30	17,3	38,9	30
Fe	35100	38000	-	38000
K	14900	20200	-	-
Li	-	-	21	-
Mg	9800	11800	-	-
Mn	808	810	488	600
Na	7300	11500	-	-
P	740	1500	-	-
S	-	437	-	-
Zn	99	68,1	70	50

2.5.2. Elementni sastav tartufa

Gljivama je za razvoj potreban organski izvor ugljika (C) te dušik (N), fosfor (P), sumpor (S), kalij (K), kalcij (Ca), magnezij (Mg), natrij (Na) i ti elementi se nazivaju makroelementima (Kalač, 2010; Watkinson i sur., 2015). Elementi koji se pojavljuju u tragovima i esencijalni su gljivama, ili mikroelementi, su mangan (Mn), selen (Se), bakar (Cu), cink (Zn), željezo (Fe), kobalt (Co), krom (Cr), nikal (Ni) i molibden (Mo) (Kalač, 2010; Watkinson i sur., 2015). U gljivama su prisutni i teški metali koji nisu potrebni za njihov rast i smatraju se toksičnima, poput kadmija (Cd), žive (Hg), olova (Pb), cezija (Cs) i arsena (As). Te i druge neesencijalne metale neke gljive unose ako su prisutni u visokim koncentracijama u tlu, poput urbanih i industrijskih područja (Gadd, 1993; Kokkoris i sur., 2019) ili područja s prirodno povišenim koncentracijama elemenata u tlu (Ivanić i sur., 2019). No pojedine vrste gljiva, zbog svog afiniteta za određene metale, imaju visoke koncentracije metala čak i kad je njihova razina u tlu niska (Kalač, 2010). Gljive su razvile specifične mehanizme koji im omogućuju toleriranje visokih koncentracija metala u okolišu (Gadd, 1993; Kalač, 2010). Prema Rossbach i sur.

(2019), ljetni tartuf mikroelemente akumulira u pokožici, dok se u glebi nalaze samo neki esencijalni makroelementi.

Makroelementi

Većinu elementnog sastava ljetnog tartufa, čak 97,9%, čine kalij, fosfor, kalcij i magnezij, dok svi ostali elementi čine 2,1% (Kruzselyi i Vetter, 2014). Najzastupljeniji element u ljetnom tartufu je kalij, s prosječnom koncentracijom 25647 mg kg^{-1} prema Kruzselyi i Vetter (2014), odnosno 21364 mg kg^{-1} prema Gregorčić i sur. (2020) (Tablica 2). Kalij ima ulogu u aktivaciji enzima vezanih za metabolizam, sintezu organskih spojeva, redukciju nitrata, fotosintezu i dr. (Weil i Brady, 2017). U tlu je prisutan u visokim koncentracijama, ali se uglavnom nalazi u strukturi minerala. Na mobilnost kalija u tlu utječe trošenje stijena. U visokoj koncentraciji može onemogućiti unos kalcija u biljke i negativno utjecati na kvalitetu tla (Weil i Brady, 2017). Kod niže pH-vrijednosti tla dolazi do ispiranja kalija iz tla, dok viša pH-vrijednost omogućuje njegovo vezanje na negativno nabijenu površinu minerala glina i organske tvari (Weil i Brady, 2017).

Fosfor je važan za izgradnju nukleinskih kiselina i staničnih membrana i ima središnju ulogu u metabolizmu energije (Watkinson i sur., 2015; Weil i Brady, 2017). Prosječna koncentracija fosfora u ljetnom tartufu je 7879 mg kg^{-1} prema Kruzselyi i Vetter (2014) i 4319 mg kg^{-1} prema Gregorčič i sur. (2020) (Tablica 2). Koncentracija fosfora u tlu prirodno je vrlo niska i većinom je u obliku nedostupnom biljkama. Općenito, biodostupnost fosfora je najveća pri pH-vrijednosti tla od 6 do 7 (Weil i Brady, 2017). U kiselim tlima dominiraju anorganski spojevi fosfora sa željezom i aluminijem, a u alkalnim tlima s kalcijem (Weil i Brady, 2017). Neke bakterije i gljive mogu povećati topivost navedenih fosfata izlučivanjem organskih kiselina (Weil i Brady, 2017). Mikorizne gljive mogu koristiti fosfate iz organskih molekula u tlima koja su produkt izrazitog trošenja i imaju malo topivog anorganskog izvora fosfora (Weil i Brady, 2017). Uz to, hife gljiva su tanje od korijenovih dlačica i mogu doprijeti u sitnije pore tla, zbog čega imaju veliku važnost u prijenosu fosfora do biljke (Weil i Brady, 2017).

Kalcij ima važnu ulogu u brojnim fiziološkim procesima, a njegov nedostatak može dovesti do povećane osjetljivosti biljke na inače normalne koncentracije drugih metala poput magnezija, mangana i cinka (Weil i Brady, 2017). Prosječna koncentracija kalcija u ljetnom tartufu je 3331 mg kg^{-1} prema Kruzselyi i Vetter (2014) i 2831 mg kg^{-1} prema Gregorčič i sur. (2020) (Tablica 2). Magnezij je sastavni dio molekule klorofila te je važan u fotosintezi. Ima ulogu u metabolizmu energije te sintezi ulja i proteina. Prosječna koncentracija magnezija u ljetnom tartufu je 1000 mg kg^{-1} prema Kruzselyi i Vetter (2014) i 1090 mg kg^{-1} prema

Gregorčič i sur. (2020) (Tablica 2). Kalcij i magnezij sastavni su dio karbonatnih minerala i imaju važnu ulogu u puferiranju i sprječavanju zakiseljavanja tla. U tlu se nalaze i kao izmjenjivi ioni na mineralima glina i organskoj tvari te su kao takvi dostupni biljkama. Sječa šuma te naknadna erozija i ispiranje minerala dovode do gubitka kalcija i magnezija iz tla (Weil i Brady, 2017).

Sumpor gradi esencijalne aminokiseline te sudjeluje u izgradnji proteina u živim bićima. Izvor sumpora u tlu najvećim dijelom je organska tvar te ga mikroorganizmi moraju mineralizirati kako bi bio dostupan biljkama (Weil i Brady, 2017). Biljke i gljive uglavnom apsorbiraju sumpor u obliku sulfatnog aniona (Weil i Brady, 2017). Adsorpcija sulfata na mineralne čestice u tlu veća je pri nižim pH-vrijednostima zbog porasta pozitivnog naboja na mineralnim površinama (Weil i Brady, 2017). Ispiranje sulfatnog iona iz tla često prate i drugi kationi poput kalcija i magnezija (Weil i Brady, 2017). Prosječna koncentracija sumpora u ljetnom tartufu je 2014 mg kg^{-1} prema Gregorčič i sur. (2020) (Tablica 2) i 4200 mg kg^{-1} prema Rossbach i sur. (2019).

Natrij je jedan od najmobilnijih metala, a u tlu se nalazi uglavnom u mineralima (Halamić i Peh, 2009). Njegova povećana koncentracija u tlu štetno djeluje na rast i razvoj biljaka te narušava strukturu tla (Halamić i Peh, 2009). Prosječna koncentracija natrija u ljetnom tartufu je 148 mg kg^{-1} prema Kruzselyi i Vetter (2014) i 106 mg kg^{-1} prema Gregorčič i sur. (2020) (Tablica 2).

Mikroelementi

Mikroelementi (Cu, Fe, Mn, Zn) imaju važnu ulogu u različitim metaboličkim procesima. Istraživanja su pokazala da bakar, cink i mangan imaju afinitet za organsku tvar (Vukadinović i Vukadinović, 2016; Weil i Brady, 2017). Najveću topivost i biodostupnost pokazuju u kiselim uvjetima što može dovesti do njihove povećane koncentracije i toksičnosti za biljke (Weil i Brady, 2017). Pri višoj pH-vrijednosti kationi mikronutrijenata stvaraju teško topive okside i hidrokside što može dovesti do njihovog nedostatka u biljkama. Optimalna vrijednost pH za biodostupnost mikroelemenata je 6 do 7 (Weil i Brady, 2017). Prisutni u suvišku, mikroelementi postaju toksični za organizam te je potrebno osigurati njihovu homeostazu u stanicama. Prosječne koncentracije Cu, Fe, Mn i Zn u ljetnom tartufu navedene su u Tablici 2.

Litogeni elementi

Aluminij nije esencijalan element ni za biljke ni za životinje, a u povišenim koncentracijama može negativno utjecati na rast biljaka. U tlu se uglavnom nalazi u mineralima. U kiselim

uvjetima tla povećava se njegova biodostupnost, a u lužnatim precipitira u obliku oksida i hidroksida (Halamić i Peh, 2009; Watkinson i sur., 2015). Zanimljivo je da su u usporedbi s nekim drugim jestivim gljivama (Tablica 2) koncentracije aluminija u ljetnom tartufu visoke; 166 mg kg^{-1} prema Kruzselyi i Vetter (2014) te 498 mg kg^{-1} prema Gregorčić i sur. (2020), no nepoznat je toksikološki značaj.

Iako ne pripada esencijalnim elementima, litij u višim biljkama potiče rast i razvoj te se smatra da sudjeluje u biokemijskim procesima povezanim s magnezijem (Rzymski i sur., 2017). Podaci o koncentraciji litija u gljivama su rijetki. Prema Vetter (2005) prosječna izmjerena koncentracija litija u mikoriznoj grupi gljiva bila je 0,26 mg kg^{-1} suhe tvari. Također, u analiziranim vrstama nije dokazan bioakumulacijski potencijal za litij. Rzymski i sur. (2017) demonstrirali su mogućnost biofortifikacije dvije vrste gljiva litijem, što je rezultiralo njegovim unosom i akumulacijom u plodištima bez utjecaja na rast i izgled gljiva ili na unos drugih esencijalnih elemenata. U navedenom istraživanju, najviša koncentracija litija u vrsti *A. cylindracea* bila je 2,08 mg kg^{-1}, a u vrsti *H. erinaceus* 6,87 mg kg^{-1}.

U Tablici 2 prikazani su rasponi koncentracija odabranih elemenata u različitim vrstama gljiva prema Kalač (2009, 2010), prosječne koncentracije u lisičarki (*Cantharellus cibarius*) i vrganju (*Boletus edulis*) prema Falandysz i sur. (2001), velikom bijelom tartufu (*Tuber magnatum*) i zimskom tartufu (*Tuber brumale*) prema Popović-Đorđević i sur. (2019), crnom tartufu (*Tuber melanosporum*) i ljetnom tartufu (*Tuber aestivum*) prema Gregorčić i sur. (2020) te ljetnom tartufu prema Kruzselyi i Vetter (2014). Usporedbom navedenih vrijednosti vidljivo je da tartufi akumuliraju manje Mg, P i K, a više Ca i Fe u odnosu na druge vrste gljiva.

U istraživanju Gregorčić i sur. (2020) uočeno je da koncentracija elemenata u plodištu tartufa varira ovisno o vrsti i lokaciji uzorkovanja, sugerirajući da iste vrste tartufa mogu selektivno unositi elemente iz određene vrste tla u određenim uvjetima okoliša. Istraživanje je pokazalo da se Mn, Fe, Cu i Zn u ljetnom tartufu akumuliraju uglavnom u pokožici, a K u glebi. Također, uočeno je da se ljetni tartufi iz Hrvatske ističu višom koncentracijom Mg i Ba te nižom koncentracijom Na i Cu u odnosu na one u drugim istraživanim zemljama (Slovenija, Italija, Sjeverna Makedonija, Poljska, Kina i Španjolska), dok se *Tuber aestivum* općenito razlikuje od drugih istraživanih vrsta tartufa po koncentraciji Ni, Cr, Mn, Mg, As i Cu.

Tablica 2. Rasponi koncentracija (mg kg^{-1}) odabranih elemenata u različitim gljivama i tartufima prema dostupnoj literaturi.

	Kalač (2009, 2010) mg kg^{-1} suha tvar	**Falandysz i sur. (2001)** mg kg^{-1} suha tvar		**Popović-Đorđević i sur. (2019)** mg kg^{-1} mokra tvar		**Gregorčić i sur. (2020)** mg kg^{-1} suha tvar		**Kruzselyi i Vetter (2014)** mg kg^{-1} suha tvar
	različite vrste gljiva	*Cantharellus cibarius*	*Boletus edulis*	*Tuber magnatum*	*Tuber brumale*	*Tuber melanosporum*	*Tuber aestivum*	*Tuber aestivum*
Al	34 – 112	140	72	-	-	233	498	166
Ca	100 – 500	340	39	558	1358	3489	2831	3331
Cu	10 – 70	-	62	34,5	15,7	122	46,6	49,3
Fe	30 – 150	140	50	349	232	156	325	230
K	20000 – 40000	54000	34000	10760	8640	20289	21364	25647
Li	0,1 – 0,2	-	-	-	-	-	-	-
Mg	800 – 1800	1200	1100	300	395	567	1090	1000
Mn	5 – 60	30	9,60	7,16	6,85	10,1	18,2	17,4
Na	100 – 400	83	180	118	67,5	72,0	106	148
P	5000 – 10000	5700	10000	2769	2155	6124	4319	7879
S	1000 – 3000	-	-	1183	1318	4297	2014	-
Zn	30 – 150	100	290	168	72,8	100	136	161

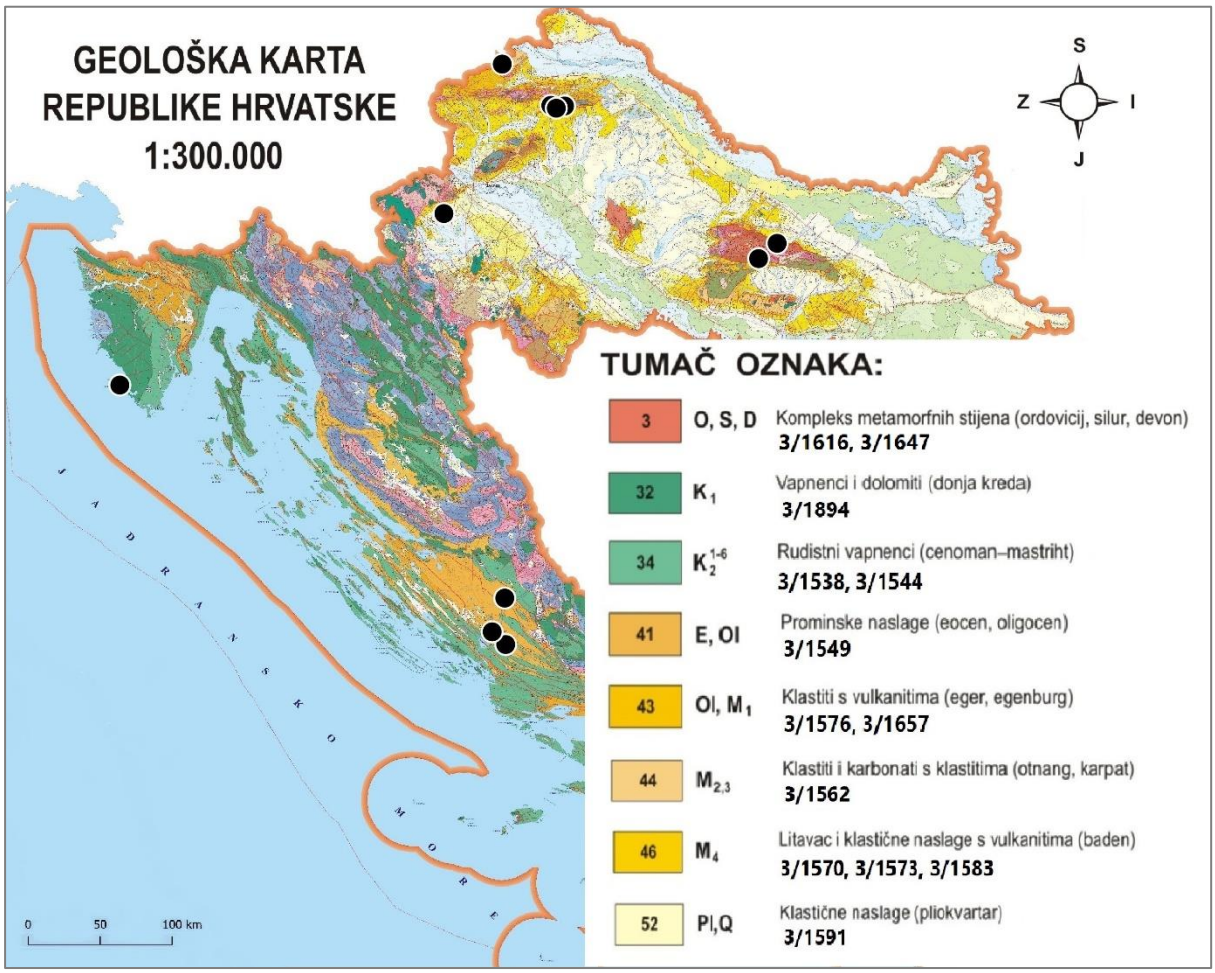
Kokkoris i sur. (2019) uočili su da različite vrste jestivih gljiva na različit način akumuliraju metale i nutrijente. Generalno, zaključili su da koncentracija elemenata u plodištima gljiva ovisi o i) vrsti gljive, ii) biodostupnosti elementa u tlu, iii) svojstvima tla, iv) koncentraciji svih elemenata u tlu i njihovom međudjelovanju te v) koncentraciji svih elemenata u plodištu i njihovom međudjelovanju. Nadalje, koncentracije elemenata u gljivama ovise i o starosti micelija, pa se viša koncentracija metala u samoniklim gljivama u odnosu na kultivirane vrste, uz razlike u supstratima, pripisuje i starosti micelija (Kalač i Svoboda, 2000). Elementi koji se u tlu nalaze u obliku dostupnijem biljkama i gljivama imaju veći potencijal za akumuliranje u organizmima direktno i indirektno kroz prehrambeni lanac. Poznavanje bioakumulacijskog potencijala elemenata, posebice teških metala, važno je za praćenje stanja okoliša i zdravlje čovjeka kao krajnjeg konzumenta. Kvantifikacija prijenosa elemenata iz tla u žive organizme može se prikazati koeficijentom bioakumulacije (eng. *Bioaccumulation Coefficient,* BAC) koji u omjer stavlja koncentraciju elementa u tlu i koncentraciju elementa u biljci / gljivi (Ali, 2019). Određivanje koncentracije elemenata u plodištu, tlu i kori simbiotskog drveta može pojasniti mehanizam unosa elemenata iz tla u mikorizni sustav (tartuf-kora) te njihovu raspodjelu.

2.6. Pedološka obilježja i šumske biljne zajednice područja uzorkovanja

Zbog heterogenosti litološkog sastava, klime i reljefa, u Hrvatskoj se nalaze različiti tipovi tala. Među njima dominiraju automorfna i hidromorfna tla (Galović, 2009). U automorfnim tlima vlaženje se odvija oborinskim vodama, a procjeđivanje vode kroz profil je slobodno i bez dužeg zadržavanja. Hidromorfna tla su vlažena oborinskim, ali i dodatnim vodama (kapilarna, poplavna, podzemna) i voda se zadržava u tlu (Galović, 2009). Halomorfna (zaslanjena) i subakvalna (u plitkim vodama stajačicama) tla čine samo 0,02% površine Hrvatske (Galović, 2009). Na Slici 3 prikazana je geološka građa terena na lokacijama uzorkovanja. Lokaliteti Dinarsko-primorskog prostora izgrađeni su pretežito od karbonatnih stijena mezozojske starosti (kreda) te Prominskih naslaga paleogenskog sedimentacijskog bazena koje leže transgresivno na krednoj podlozi. Lokalitete kontinentalnog prostora obilježavaju magmatske i klastične stijene kenozojske starosti te metamorfne stijene paleozojske starosti (Velić i Vlahović, 2009).

Šumske biljne zajednice u Hrvatskoj pripadaju mediteranskoj regiji (40% površine, 17 šumskih zajednica) i eurosibirsko-sjevernoameričkoj regiji (60% površine, 45 šumskih

zajednica) (Alegro, 2000). U nastavku teksta lokaliteti uzorkovanja grupirani su prema šumskim zajednicama i tipu tla.



Slika 3. Geološka karta s lokacijama uzorkovanja (prilagođeno prema Hrvatski geološki institut, 2009).

Pokrovnik, Drniš (3/1538) / *Stinice i Radići Donji, Krka* (3/1544 i 3/1549)

Na karbonatnoj podlozi najčešće se razvijaju automorfna tla, osim područja oko dolina rijeka gdje se pojavljuju hidromorfna tla (Galović, 2009). U ovom dijelu Hrvatske, s dominantno karbonatnom litološkom građom, prevladavaju smeđa tla na vapnencima i dolomitima te crvenica (Galović, 2009). Prema digitalnoj pedološkoj karti Republike Hrvatske (http://pedologija.com.hr), lokalitet Pokrovnik karakterizira plitka i srednje duboka crvenica, Radići Donji smeđe tlo na vapnencu, a Stinice kamenjar koji je okružen rendzinom na laporu ili mekim vapnencima. Crvenica se razvija na mezozojskim vapnencima i dolomitima u mediteranskoj i submediteranskoj klimi, na nadmorskoj visini do 500 metara (Škorić i sur., 1985). Smeđe tlo na vapnencu i dolomitu također se razvija na mezozojskim naslagama, ali u

širokom rasponu nadmorskih visina (od 200 do 1700 metara) i klimatskih uvjeta (Škorić i sur., 1985). Rendzina se formira u različitim bioklimatskim uvjetima na rastresitim stijenama (lapori, les, karbonatni pješčenjaci, laporovite gline, laporoviti vapnenci) koje sadrže više od 10% $CaCO_3$ (Zgrablić i sur, 2014). Kamenjar nastaje na tvrdim i čvrstim stijenama, dubine do 20 cm, kod nepovoljnih klimatskih uvjeta, kao i na najvišim krškim vrhovima te područjima gdje prevladava erozija (Škorić i sur., 1985; Vukadinović i Vukadinović, 2016).

Šume bijelog graba i hrasta medunca (As. *Querco-Carpinetum orientalis* Horvatić 1939) (submediteranska zona) čine najznačajniju klimazonalnu zajednicu priobalnog pojasa sjevernog primorja, Istre, Krka, Ravnih kotara te dijela Dalmacije. Pripadaju litoralnom pojasu mediteranske regije. Razvijaju se na smeđim karbonatnim tlima i crvenici.

Žarovnica, Ivanec (3/1562) / *Visoko, Novi Marof* (3/1570, 3/1573, 3/1576 i 3/1657)

Među automorfnim tlima u Hrvatskom zagorju izmjenjuju se smeđa tla s rendzinama (Galović, 2009). Svih pet lokaliteta na ovom području nalaze se na rendzini na laporu ili mekim vapnencima (http://pedologija.com.hr). Ovo tlo je najčešće praškasto-glinaste do glinasto-ilovaste teksture, s dobrom sposobnosti zadržavanja vode. Sadržaj karbonata varira u širokom rasponu, a udio organske tvari je visok (Škorić i sur., 1985, Vukadinović i Vukadinović, 2016).

Šume hrasta kitnjaka i običnog graba (As. *Epimedio-Carpinum betuli* Horvat 1938 / Borhidi 1963) pripadaju brežuljkastom pojasu eurosibirsko-sjevernoameričke regije i obuhvaćaju nadmorske visine od 150 do 450 metara. Razvijaju se na neutralnim do slabo bazičnim tlima, na vapnenačkoj ili dolomitnoj geološkoj podlozi, posebice oko gorja sjeverozapadne i središnje Hrvatske prema obroncima Dinarida i rubovima krških polja (Alegro, 2000). Uz hrast kitnjak (*Quercus petraea*) i obični grab (*Carpinus betulus*), česte su bukva (*Fagus sylvatica*) i lijeska (*Colylus avellana*) (Alegro, 2000; Vukelić i sur., 2008). Jedan od uzoraka lokaliteta Visoko (3/1576) uključuje područje drvoreda smreke. Smreka (*Picea abies*) je tijekom 19. stoljeća zbog brzog rasta i skromnih zahtjeva sađena u područjima izvan svog prirodnog areala te se danas prostire šire od svojih prirodnih staništa u planinskim područjima (Alegro, 2000). Pogoduju joj zimske hladnoće kontinentalne i planinske klime, a najbolje uspijeva na ilovastim i rahlim tlima.

Jastrebarski lugovi (3/1591)

U nizinskom području panonskog dijela Hrvatske prevladavaju hidromorfna tla (Galović, 2009). Na ovom lokalitetu prevladava pseudoglej na zaravni (http://pedologija.com.hr). Pseudoglej se razvija na ravničarskim terenima s blagim nagibima (Zgrablić i sur, 2014). Višak

oborinske vode koja se zadržava na nepropusnom sloju uvjetuje pseudooglejavanje. Matični supstrat su ilovine, gline ili glinoviti sedimenti. To su tla pretežito praškasto-ilovaste teksture u površinskom horizontu, velike zbijenosti, male propusnosti i niskog sadržaja organske tvari (Škorić i sur., 1985, Vukadinović i Vukadinović, 2016).

Šume hrasta lužnjaka i običnog graba (As. *Carpino betuli-Quercetum roboris* Rauš 1973) pripadaju nizinskom pojasu eurosibirsko-sjevernoameričke regije koji čini najniži pojas šumske vegetacije. Prostiru se duž cijelog toka Save, u spačvanskom području te u dolini Mirne (Alegro, 2000). Razvijaju se na nizinskim smeđim tlima, pseudogleju i mineralno-močvarnim umjereno oglejanim tlima slabo kisele do neutralne reakcije (Alegro, 2000). Osim hrasta lužnjaka (*Quercus robur*) i običnog graba (*Carpinus betulus*) značajne su i lipe (*Tilla* sp.) i lijeska (*Corylus avellana*) (Alegro, 2000).

Poljanska, Velika (3/1583) / *Jankovac, Papuk* (3/1616 i 3/1647)

Od automorfnih tipova tala panonske Hrvatske na obroncima Papuka prevladavaju lesivirana tla, a na vršnim dijelovima smeđa tla (Galović, 2009). Dva lokaliteta na Jankovcu karakterizira smeđe tlo na vapnencu, a na lokalitetu Poljanska je lesivirano tlo tipično na laporu i mekom vapnencu (http://pedologija.com.hr). Tekstura smeđeg tla je uglavnom praškasto-glinasta. Lesivirano šumsko tlo ima mali sadržaj organske tvari te je sklono zbijanju. Uglavnom je praškasto-glinasto-ilovaste teksture (Škorić i sur., 1985, Vukadinović i Vukadinović, 2016).

Brdski pojas eurosibirsko-sjevernoameričke regije zauzima prostore iznad 350 metara nadmorske visine u panonskom prostoru. Dominantna vrsta ovog pojasa je bukva (*Fagus sylvatica*), a zbog različitih ekološko-klimatskih prilika postoje različite grupe šumskih zajednica (Alegro, 2000). Uz bukvu dominiraju hrast kitnjak (*Quercus petraea*), obični grab (*Carpinus betulus*), a degradacijom staništa nastaju panjače na kojima obilno rastu lijeska (*Corylus avellana*) i breza (*Betula pendula*) (Alegro, 2000).

Veli Brijun (3/1894)

Kao i u većini zapadne „crvene“ Istre (Galović, 2009), na lokalitetu Veli Brijun tlo je crvenica, plitka i srednje duboka (http://pedologija.com.hr), razvijena na mezozojskim vapnencima i dolomitima. Crvenica je glinovita i rahla, sadrži mali udio organske tvari (1 – 3%), lako upija i može dugo zadržati vodu (Škorić i sur., 1985, Vukadinović i Vukadinović, 2016).

Šume hrasta crnike s crnim jasenom (As. *Fraxino orni-Quercetum ilicis* Horvatić 1956/1958) (eumediteranska zona) zauzimaju uski obalni prostor Hrvatskog primorja od jugozapadne obale Istre do Prevlake te većinu južnojadranskih otoka. Pripadaju litoralnom

pojasu mediteranske regije. Uz hrast crniku (*Quercus ilex*), čest je i crni jasen (*Fraxinus ornus*), osobito u sjevernijem području, te lovor (*Laurus nobilis*). Zbog utjecaja čovjeka, šume hrasta crnike danas su očuvane na vrlo malim površinama među kojima se nalaze i Brijuni. Najvećim dijelom su pretvorene u degradacijske stadije makije, gariga i kamenjara (Alegro, 2000).

2.7. Multielementna analiza primjenom tehnike ICP-MS

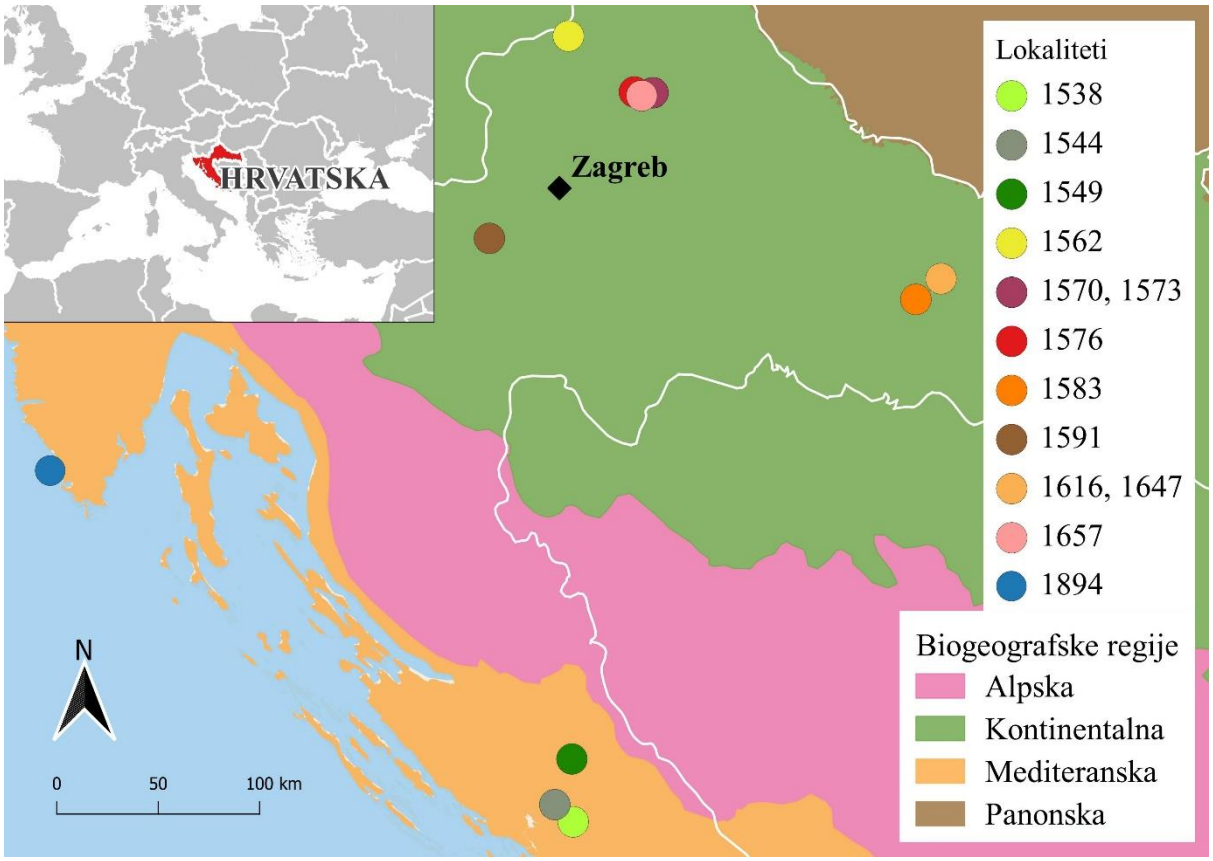
U istraživanju okoliša veliku važnost ima precizno određivanje vrlo niske koncentracije elemenata u različitim vrstama uzorka. Masena spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom (eng. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, ICP-MS) je analitička tehnika koja se koristi za mjerenje koncentracije elemenata u tragovima u različitim vrstama uzoraka. Koristi se induktivno spregnuta plazma kao ionizacijski izvor, a za detekciju nastalih iona koristi se maseni spektrometar. Prednosti ovakve analize su brzina, preciznost, niska granica detekcije, mogućnost analize velikog broja elemenata istovremeno, sposobnost mjerenja izotopa elemenata te dobra ponovljivost. Primarno je namijenjena analizi uzoraka u tekućem stanju, a priprema uzoraka je relativno jednostavna. U uzorak mora biti dodan interni standard te otapalo, a krute uzorke je prethodno potrebno podvrgnuti totalnoj digestiji (Wilschefski i Baxter, 2019).

Kod spektrometrije masa visoke razlučivosti uz induktivno spregnutu plazmu (eng. *High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, HR-ICP-MS) koristi se maseni spektrometar visoke rezolucije koji, kombiniranjem fizičkog ograničavanja snopa iona prolaskom kroz usku pukotinu različitih dimenzija te dvostrukim fokusiranjem u električnom i magnetskom polju, omogućuje preciznije fokusiranje izotopa te korištenje niske, srednje i visoke rezolucije čime se smanjuju moguće interferencije (Wilschefski i Baxter, 2019).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Područje istraživanja i metode uzorkovanja

Plodišta ljetnog tartufa sakupljana su u staništima različitih šumskih ekosustava Hrvatske, od srpnja 2018. do ožujka 2019. godine. Lokacije uzorkovanja, s pripadajućim koordinatama i opisom staništa, navedene su u Tablici 3 i prikazane na Slici 4. Lokacije uključuju kontinentalnu i mediteransku biogeografsku regiju Hrvatske te nadmorske visine do 500 metara.



Slika 4. Lokacije uzorkovanja.

Tablica 3. Lokacije i koordinate uzorkovanja te pripadajuće biljne vrste staništa.

UZORAK	LOKALITET	KOORDINATE	STANIŠTE
3/1538	Pokrovnik, Drniš	43º48'32,5" 16º03'39,5"	šumarak hrasta medunca (*Quercus pubescens*)
3/1544	Stinice, NP Krka	43º51'50,5" 15º58'46,8"	sastojina hrasta medunca (*Quercus pubescens*) i bijelog graba (*Carpinus orientalis*)
3/1549	Radići Donji, NP Krka	44º00'34,8" 16º03'19,8"	guštik bijelog graba (*Carpinus orientalis*) i hrasta medunca (*Quercus pubescens*)
3/1562	Žarovnica, Ivanec	46º16'04" 16º02'24,7"	sastojina bukve (*Fagus sylvatica*) i običnog graba (*Carpinus betulus*)
3/1570	Visoko, Novi Marof 1	46º05'38,4" 16º24'51,2"	sastojina bukve (*Fagus sylvatica*), običnog graba (*Carpinus betulus*) i obične lijeske (*Corylus avellana*)
3/1573	Visoko, Novi Marof 2	46º05'38,4" 16º24'51,2"	sastojina bukve (*Fagus sylvatica*), običnog graba (*Carpinus betulus*) i obične lijeske (*Corylus avellana*)
3/1576	Visoko, Novi Marof 3	46º05'47,2" 16º19'54,1"	drvored smreke (*Picea abies*)
3/1583	Poljanska, Velika	45º27'20,3" 17º34'43,9"	sastojina bukve (*Fagus sylvatica*) i običnog graba (*Carpinus betulus*)
3/1591	Jastrebarski lugovi	45º38'41,4" 15º41'24,7"	sastojina hrasta lužnjaka (*Quercus robur*) i običnog graba (*Carpinus betulus*)
3/1616	Jankovac 1, PP Papuk	45º31'09,3" 17º41'31,2"	sastojina bukve (*Fagus sylvatica*), hrasta kitnjaka (*Quercus petraea*) i obične lijeske (*Corylus avellana*)
3/1647	Jankovac 2, PP Papuk	45º31'11,7" 17º41'24,4"	sastojina bukve (*Fagus sylvatica*), hrasta kitnjaka (*Quercus petraea*) i obične lijeske (*Corylus avellana*)
3/1657	Visoko, Novi Marof 4	46º05'05,7" 16º21'52,3"	obični grab (*Carpinus betulus*), obična lijeska (*Corylus avellana*) i bukva (*Fagus sylvatica*)
3/1894	Veli Brijun, NP Brijuni	44º55'16,1" 13º44'41,2"	hrast crnika (*Quercus ilex*), lovor (*Laurus nobilis*) i čempres (*Cupressus sempervirens*)

Za sakupljanje ljetnog tartufa korišten je obučeni pas pasmine Lagotto Romagnolo. Na označenim mjestima tartufi su pažljivo izvađeni iz zemlje, opisani i spremljeni u papirnatu vrećicu. Na mjestima pronalaska uzorkovano je oko 0,5 kg tla, izbjegavajući kamenje, korijenje

i otpatke, te kora s najbližeg stabla za koje se pretpostavlja da je u mikorizi s tartufom. Svi uzorci pohranjeni su na temperaturi od 4°C do daljnje obrade u laboratoriju. Uzorci ljetnog tartufa taksonomski su identificirani klasično na temelju morfoloških karakteristika plodišta te molekularnom identifikacijom (DNA barkodiranje korištenjem ITS rDNA sekvence). Uzorci tartufa sušeni su u eksikatoru na uzlaznoj struji toplog zraka (40 – 50°C), dok su uzorci tla i kore sušeni na zraku. Nakon sušenja uzorci su homogenizirani u ahatnom mlincu. Identifikacija i priprema tartufa provedena je u Laboratoriju za biološku raznolikost, Institut Ruđer Bošković.

3.2. Obrada uzoraka za multielementnu analizu

Poduzorci tla (0,05 g) podvrgnuti su totalnoj digestiji u uređaju za mikrovalnu digestiju (Multiwave 3000, Anton Paar). U teflonske posudice s uzorcima tla dodano je 4 mL dušične kiseline (HNO_3, 65%, *pro analysi*, Kemika, Zagreb, Hrvatska), 1 mL klorovodične kiseline (HCl, 36,5%, *pro analysi*, Kemika, Zagreb, Hrvatska) i 1 mL fluorovodične kiseline (HF, 48%, *pro analysi*, Kemika, Zagreb, Hrvatska) nakon čega je uslijedilo dodavanje 6 mL borne kiseline (H_3BO_3, Fluka, Steinheim, Švicarska). Nakon digestije, uzorci su razrijeđeni 10 puta te im je dodano 2% v/v HNO_3 (65%, *supra pur*, Fluka, Steinheim, Švicarska), a indij (In, 1 µg L^{-1}) je dodan kao interni standard. Uzorcima tartufa i kore (0,1 g) dodano je 7 mL HNO_3 (65%, *supra pur*, Fluka, Steinheim, Švicarska) i 0,1 mL HF (48%, *pro analysi*, Kemika, Zagreb, Hrvatska). Kao i kod uzoraka tla, nakon digestije, uzorcima tartufa i kore dodano je 2% v/v NHO_3 (65%, *supra pur*, Fluka, Steinheim, Švicarska) i indij (In, 1 µg L^{-1}), ali bez razrijeđivanja.

3.3. Multielementna analiza

Koncentracije elemenata u uzorcima određene su primjenom tehnike spektrometrije masa visoke razlučivosti uz induktivno spregnutu plazmu (HR-ICP-MS) pomoću instrumenta Element 2 (Thermo, Bremen, Njemačka). Detaljan opis instrumentalnih parametara nalazi se u radu Fiket i sur. (2016). Standardi za multielementnu analizu pripremljeni su odgovarajućim razrjeđivanjem multielementnog referentnog standarda (Analytika, Prag, Češka). U ovom radu prikazane su koncentracije 12 elemenata (Al, Ca, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, P, S i Zn). Pouzdanost analize osigurana je istovremenom analizom certificiranog referentnog materijala za tlo (NCS CD 77302 tj. GBW 07410) te za ljulj (ERM-CD281).

Bioakumulacijski faktor (BAF) računat je prema formuli:

$$BAF = \text{koncentracija}_{\text{tartuf/kora}} / \text{koncentracija}_{\text{tlo}} \quad (1)$$

3.4. Mjerenje pH-vrijednosti i određivanje kapaciteta kationske izmjene (CEC-a)

Vrijednost pH određena je pomoću pH elektrode, u suspenziji tla u vodi u omjeru 1:5.

Kapacitet kationske izmjene (eng. *Cation Exchange Capacity*, CEC) određen je metodom koju su opisali Busenberg i Clemency (1973). Za mjerenje je korištena amonij selektivna elektroda (Mettler Toledo, Švicarska).

4. REZULTATI

4.1. Koncentracije elemenata u uzorcima tla, kore i tartufa

Ukupne koncentracije 12 elemenata (Al, Ca, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, P, S i Zn) u uzorcima tala, tartufa i kora prikazane su u Tablici 4.

Koncentracije elemenata u analiziranim tlima nalaze se u rasponu od 12,6 mg kg^{-1} za Cu do 217 g kg^{-1} za Ca, u tartufima od 0,07 mg kg^{-1} za Li do 35,8 g kg^{-1} za K, te u kori od 0,13 mg kg^{-1} za Li do 123 g kg^{-1} za S. Gledajući prosječne koncentracije (Tablica 4), zastupljenost odabranih elemenata u tlu je redom Ca > Al > Fe > S > P > K > Mg > Na > Mn > Zn > Li > Cu, u tartufima K > P > Ca > S > Al > Mg > Fe > Na > Zn > Mn > Cu > Li, a u kori Ca > S > P > K > Mg > Al > Fe > Na > Mn > Zn > Cu > Li.

4.1.1. Tlo

Koncentracije Al i K u analiziranim tlima nalaze se u velikom rasponu, od 27860 mg kg^{-1} i 5710 mg kg^{-1}, do 91537 mg kg^{-1} i 25351 mg kg^{-1}. Najniže koncentracije izmjerene su u uzorcima 3/1616 i 3/1576, a najviše u uzorcima 3/1894, 3/1562 i 3/1647. U ovim uzorcima također je i veća zastupljenost Li, čije se koncentracije nalaze u rasponu od 27 mg kg^{-1} do 87,4 mg kg^{-1}. Najmanja zastupljenost Li je u uzorcima 3/1583 i 3/1576. U uzorku 3/1576 također su određene najniže koncentracije Fe, Mn i Zn, 17000 mg kg^{-1}, 408 mg kg^{-1} i 69 mg kg^{-1}, dok je najveća zastupljenost Fe u uzorku 3/1894, 45531 mg kg^{-1}, a Mn i Zn u uzorku 3/1616, 2384 mg kg^{-1} i 232 mg kg^{-1}.

Koncentracije Ca u analiziranim uzorcima tla znatno variraju; dok je najniža vrijednost određena na lokalitetu 3/1647, 5787 mg kg^{-1}, u većini uzoraka zastupljenost je veća, do 89678 mg kg^{-1}, dok su znatno veće vrijednosti određene u uzorcima 3/1616, 137511 mg kg^{-1} i 3/1576, 217402 mg kg^{-1}.

Koncentracije Mg u analiziranim tlima nalaze se u uskom rasponu od 5520 mg kg^{-1}, na lokalitetu 3/1591, do 9506 mg kg^{-1} u uzorku 3/1562, dok je znatno viša koncentracija, 80070 mg kg^{-1}, određena na lokalitetu 3/1616.

Najniža koncentracija Na, 1418 mg kg^{-1}, izmjerena je u uzorku 3/1616, dok su najviše koncentracije određene u uzorcima 3/1583 i 3/1894, i dosežu 8311 mg kg^{-1}.

Najniže koncentracije P (579 mg kg^{-1}) i S (358 mg kg^{-1}) izmjerene su u uzorku 3/1583. Zastupljenost oba elementa znatno je više u uzorcima 3/1616, 3/1647, 3/1657 i 3/1894, s

najvišim koncentracijama P (64672 mg kg^{-1}) na lokalitetu 3/1657, a S (85876 mg kg^{-1}) na lokalitetu 3/1894.

Od mjerenih elemenata u uzorcima tla najniža je koncentracija Cu; u većini uzoraka nalazi se u rasponu od 22 mg kg^{-1} u uzorku 3/1647 do 35,9 mg kg^{-1} u uzorcima 3/1538 i 3/1616. Znatno niža vrijednost, 12,6 mg kg^{-1}, izmjerena je u uzorku 3/1583.

4.1.2. Tartufi

Koncentracije pojedinih elemenata u uzorcima tartufa prikazane su na Slikama 5-7. Na lokalitetu 3/1538 izmjerene su najniže koncentracije svih elemenata, u pravilu i do reda veličine niže nego u ostalim uzorcima.

Koncentracija Ca je u većini uzoraka tartufa u rasponu od 2361 mg kg^{-1} do 7295 mg kg^{-1}, dok je znatno viša koncentracija, 12586 mg kg^{-1}, određena u uzorku 3/1570.

Najviše koncentracije litogenih elemenata (Li, Al, Mn, Fe) i Na izmjerene su na lokalitetima 3/1647 i 3/1570, gdje je njihova zastupljenost znatno viša od ostalih uzoraka, dok su povišene koncentracije Li, Mn i Fe izmjerene i u uzorku 3/1616. Slična je i zastupljenost Mg, kojem je najviša koncentracija, 2688 mg kg^{-1}, izmjerena u uzorku 3/1616.

Koncentracije nutrijenata u tartufima nalaze se u znatno užem rasponu vrijednosti i može se uočiti grupiranje pojedinih uzoraka oko sličnih vrijednosti, izuzev uzorka 3/1538 u kojem su koncentracije znatno niže. Najviše koncentracije Cu, ~43 mg kg^{-1}, izmjerene su u uzorcima 3/1544, 3/1570, 3/2573 i 3/1576. Najviše koncentracije K (35834 mg kg^{-1}), Zn (166 mg kg^{-1}) i P (5765 mg kg^{-1}) izmjerene su na lokalitetu 3/1576, dok je najviša koncentracija S (6364 mg kg^{-1}) izmjerena na lokalitetu 3/1573.

4.1.3. Kora

Od litogenih elemenata Li, Al i Fe pokazuju istu raspodjelu koncentracija u analiziranim korama, minimalne koncentracije određene su u uzorku 3/1583, 0,127 mg kg^{-1} (Li), 149 mg kg^{-1} (Al) i 81 mg kg^{-1} (Fe), a maksimalne u uzorku 3/1562, 2,03 mg kg^{-1} (Li) i 1998 mg kg^{-1} (Al) i 1087 mg kg^{-1} (Fe), dok su povišene koncentracije određene i u uzorku 3/1657. Koncentracije Mn najviše su u uzorcima 3/1562 (227 mg kg^{-1}) i 3/1544 (226 mg kg^{-1}). Raspodjela Mn donekle odudara od ostalih litogenih elemenata a najniže koncentracije određene su u uzorku 3/1570, 18,3 mg kg^{-1}.

Koncentracije Mg variraju od 279 mg kg^{-1} u uzorku 3/1647, do 1347 mg kg^{-1} u uzorku 3/1544, dok je nešto veća zastupljenost uočena i u uzorcima 3/1538 i 3/1549.

Nutrijenti P, S, K te Zn imaju najniže koncentracije u uzorku 3/1538, dok su u ostalim uzorcima koncentracije znatno više, a maksimume P postiže u uzorku 3/1657 (21881 mg kg^{-1}), S u uzorku 3/1591 (122766 mg kg^{-1}), K u uzorku 3/1894 (3275 mg kg^{-1}), a Zn u uzorku 3/1576 (93,68 mg kg^{-1}).

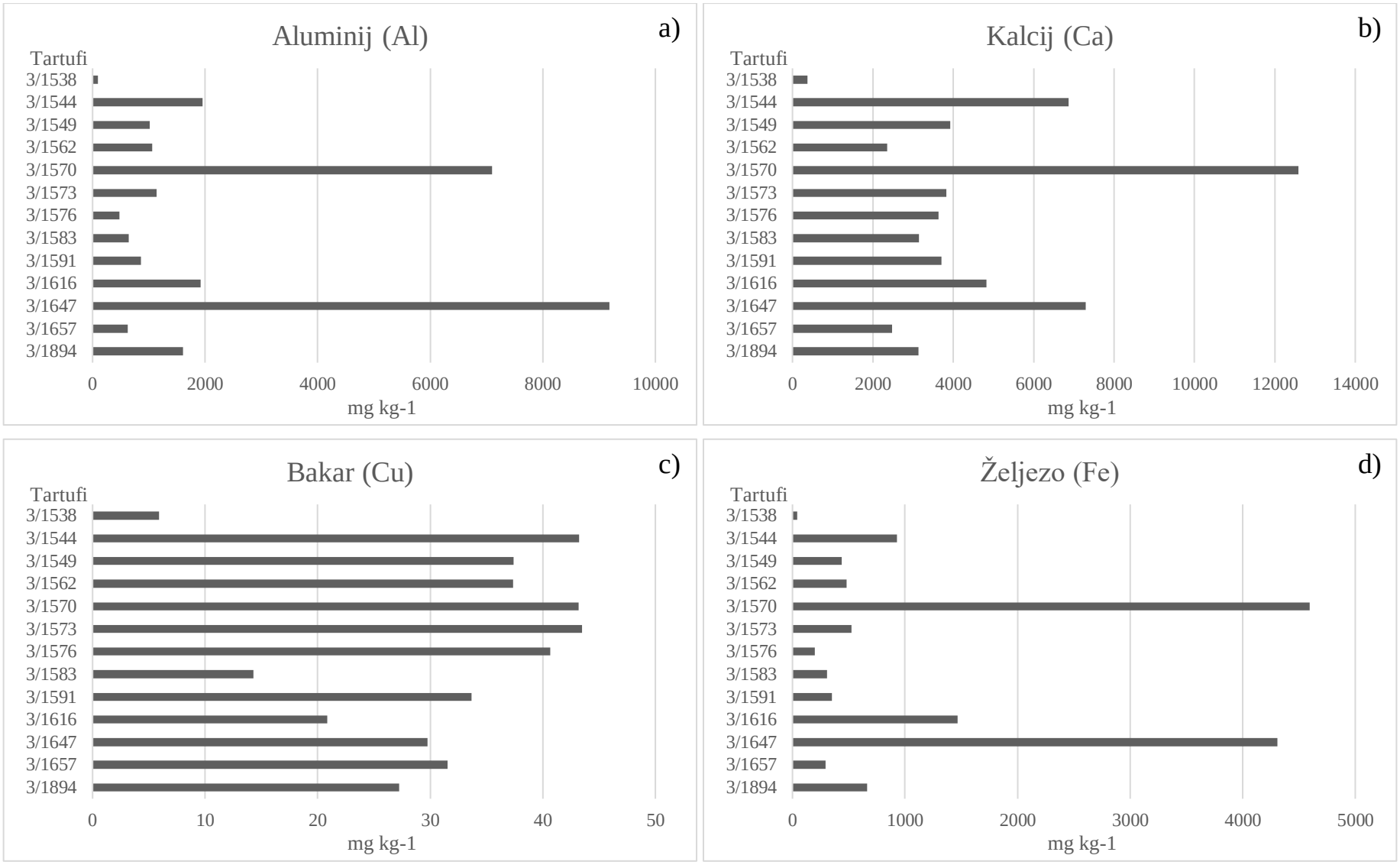
Zastupljenost Cu najniža je u uzorku 3/1647, 2,18 mg kg^{-1}, dok maksimum postiže u uzorku 3/1562, 14,7 mg kg^{-1}.

Tablica 4. Koncentracije elemenata u uzorcima tla, tartufa i kora sa svih lokacija uzorkovanja (izražene u mg kg^{-1}).

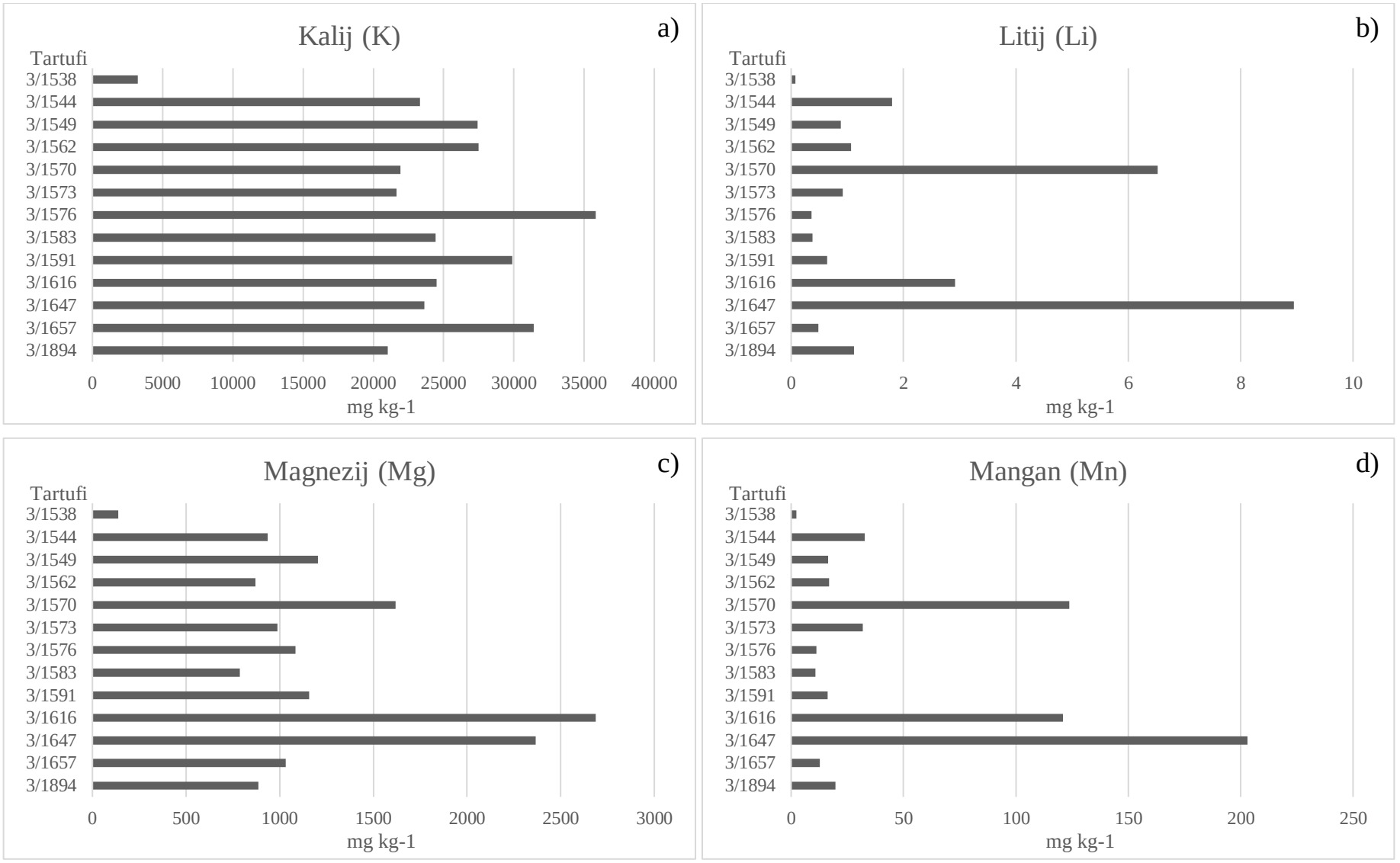
UZORAK		Al	Ca	Cu	Fe	K	Li	Mg	Mn	Na	P	S	Zn
3/1538	tlo	67018	43288	35,9	40466	18786	53,7	7573	1181	1800	723	776	117
	tartuf	94,0	371	5,90	43,7	3228	0,070	138	2,36	16,3	587	296	10,0
	kora	157	55150	6,97	84,4	961	0,193	1136	46,2	42,7	101	234	4,70
3/1544	tlo	59151	89678	31,6	33596	13912	57,8	6432	1038	1829	741	865	97,0
	tartuf	1951	6875	43,2	927	23323	1,79	935	32,8	216	4353	5789	93,9
	kora	310	66209	5,33	169	2781	0,255	1347	226	5,60	308	1115	5,70
3/1549	tlo	57537	54542	26,7	31931	14223	57,5	6444	851	1712	810	1016	106
	tartuf	1020	3925	37,4	437	27424	0,880	1203	16,4	131	5394	4011	80,3
	kora	351	62262	5,10	202	2111	0,299	1066	54,6	12,1	285	953	6,29
3/1562	tlo	74585	11444	31,9	40506	23193	87,4	9506	978	3701	763	598	125
	tartuf	1062	2361	37,4	480	27480	1,07	871	16,9	182	5324	2481	114
	kora	1998	49701	14,7	1087	1683	2,03	894	227	137	208	1066	32,2
3/1570	tlo	47829	81493	24,8	29083	13945	40,0	7126	818	4018	919	409	91,9
	tartuf	7096	12586	43,2	4596	21945	6,52	1619	124	1068	4812	2333	139
	kora	555	37216	4,79	316	1511	0,458	352	18,3	215	13951	39868	36,1
3/1573	tlo	53093	49767	33,7	32488	13441	54,4	7127	1600	3047	1195	731	112
	tartuf	1139	3822	43,5	524	21643	0,910	988	31,9	192	4240	6364	120
	kora	406	27238	4,23	213	1996	0,322	336	61,0	116	17341	45172	15,8
3/1576	tlo	29743	217402	32,1	17000	9742	28,6	6335	408	1911	1169	504	68,7
	tartuf	476	3632	40,7	197	35834	0,360	1085	11,3	330	5765	2023	166
	kora	289	12871	6,74	139	2005	0,340	757	36,5	78,9	21275	33228	93,7

Tablica 4. Nastavak

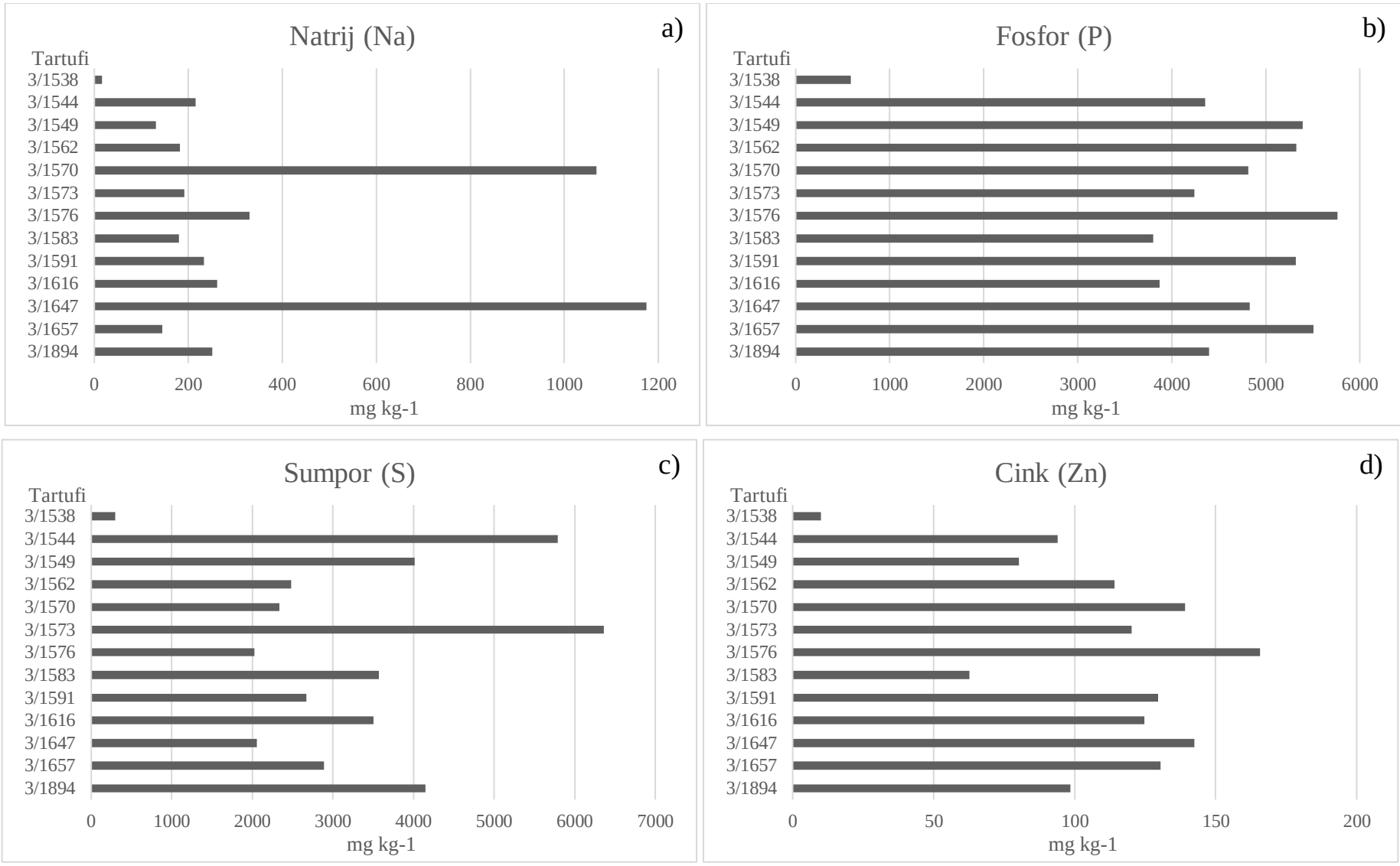
UZORAK		Al	Ca	Cu	Fe	K	Li	Mg	Mn	Na	P	S	Zn
3/1583	tlo	50692	48966	12,6	27727	15429	27,0	6212	644	8311	579	358	82,2
	tartuf	645	3153	14,3	306	24417	0,380	788	10,8	180	3804	3570	62,7
	kora	149	18354	4,07	80,8	2342	0,127	409	140	90,3	16555	33265	8,44
3/1591	tlo	56488	28942	31,9	29393	13675	53,4	5520	887	4667	912	517	91,5
	tartuf	862	3704	33,7	352	29875	0,640	1157	16,3	233	5320	2667	130
	kora	163	68798	2,50	89,2	1636	0,151	857	103	131	12773	122766	14,4
3/1616	tlo	27860	137511	35,9	20289	5710	38,3	80070	2384	1418	36390	80076	232
	tartuf	1923	4820	20,9	1466	24506	2,92	2688	121	262	3872	3504	125
	kora	219	17581	3,54	122	1328	0,212	541	69,7	76,5	13331	50980	8,81
3/1647	tlo	70006	5787	22,0	33416	25351	64,7	8751	1432	5277	46628	65632	222
	tartuf	9183	7295	29,8	4306	23614	8,95	2367	203	1175	4829	2053	143
	kora	404	35723	2,18	208	1135	0,440	279	136	73,0	12797	40415	8,22
3/1657	tlo	68054	27164	30,9	35564	16439	52,2	7889	809	5708	64672	77295	111
	tartuf	625	2480	31,5	295	31433	0,480	1031	12,7	145	5508	2890	130
	kora	1056	43308	6,44	533	2500	1,39	636	59,7	264	21881	73973	19,7
3/1894	tlo	91537	11598	31,0	45531	17743	66,6	6949	989	7073	51361	85876	127
	tartuf	1604	3129	27,2	665	21009	1,12	887	19,7	251	4400	4147	98,5
	kora	413	22457	5,97	215	3275	0,288	359	74,1	252	376	847	71,8
Prosjek	tlo	57968	62121	29,3	32076	15506	52,4	12764	1078	3882	15912	24204	121
	tartuf	2129	4473	31,4	1122	24287	2,01	1211	47,6	336	4477	3240	108
	kora	497	39759	5,58	265	1943	0,501	689	96,4	114	10090	34144	25,1



Slika 5. Koncentracije a) Al, b) Ca, c) Cu i d) Fe u uzorcima tartufa u mg kg^{-1}.



Slika 6. Koncentracije a) K, b) Li, c) Mg i d) Mn u uzorcima tartufa u mg kg^{-1}.



Slika 7. Koncentracije a) Na, b) P, c) S i d) Zn u uzorcima tartufa u mg kg^{-1}.

4.2. CEC i pH-vrijednost

U Tablici 5 prikazani su CEC i pH-vrijednost analiziranih uzoraka tla. Vrijednosti pH nalaze se u rasponu od 7,4 u uzorku 3/1616 (Jankovac 1) do 8,7 u uzorku 3/1576 (Novi Marof 3).

Vrijednosti CEC-a analiziranih tala nalaze se u širokom rasponu, od 26,3 $cmol_+ kg^{-1}$ u uzorku 3/1647 (Jankovac 2) do 104,8 $cmol_+ kg^{-1}$ u uzorku 3/1549 (Radići Donji).

Tablica 5. Vrijednosti pH i CEC u analiziranim tlima.

UZORAK	pH	CEC ($cmol_+ kg^{-1}$)
3/1538	7,8	91,6
3/1544	7,9	48,8
3/1549	8,1	104,8
3/1562	8,0	69,5
3/1570	7,8	58,5
3/1573	7,6	75,1
3/1576	8,7	26,6
3/1583	8,1	36,3
3/1591	8,4	57,7
3/1616	7,4	57,8
3/1647	7,6	26,3
3/1657	7,9	55,2
3/1894	8,2	55,5

4.3. Bioakumulacijski potencijal

Bioakumulacijski faktori (BAF) tartufa i kora prikazani su u Tablici 6. BAF manji od 1 utvrđen je za Al, Fe, Li, Mg, Mn i Na u svim uzorcima tartufa, a za Ca u većini uzoraka (osim 3/1647). BAF za Cu veći je od 1 u gotovo svim uzorcima, izuzev uzoraka 3/1538, 3/1616 i 3/1894, gdje je manji od 1. BAF za K manji je od 1 u uzorcima 3/1538 i 3/1647, u rasponu od 1 do 2 u uzorcima 3/1544, 3/1549, 3/1562, 3/1570, 3/1573, 3/1583 i 3/1657, a veći od 2 u uzorcima 3/1576, 3/1591 te 3/1616 gdje je maksimalnih 4,29. BAF-ovi za P i S manji su od 1 u uzorcima 3/1538, 3/1616, 3/1647, 3/1657 te 3/1894. U ostalim su uzorcima veći od 3,50 s maksimumom od 6,98 za P u uzorku 3/1562 te 9,98 za S u uzorku 3/1583. BAF za Zn manji je od 1 u svim

uzorcima osim 3/1570, 3/1573, 3/1591, te 3/1657 u kojima je u rasponu od 1 do 2, a najveći BAF za Zn je u uzorku 3/1576 gdje iznosi 2,41.

U uzorcima kora BAF manji od 1 utvrđen je za Al, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn i Na za sve uzorke. BAF za Ca manji je od 1 u svim uzorcima izuzev uzoraka 3/1538, 1/1549, 3/1657 te 3/1892 gdje je u rasponu od 1 do 2, dok je veći od 2 u uzorcima 3/1562, 3/1591 te 3/1647 gdje je maksimalnih 6,17. BAF za P manji je od 1 u svim uzorcima osim uzoraka 3/1570, 3/1573, 3/1576, 3/1583 i 3/1591 u kojima je znatno veći, u rasponu od 14,0 do 28,6. BAF za S manji je od 1 u svim uzorcima osim 3/1544 i 3/1562 gdje je u rasponu od 1 do 2, i uzoraka 3/1570, 3/1573, 3/1576, 3/1583 i 3/1591 gdje se nalaze u rasponu od 61,8 do 237. BAF za Zn manji je od 1 u svim uzorcima kora osim 3/1576 gdje iznosi 1,36.

Tablica 6. Bioakumulacijski faktori elemenata u tartufima i kori.

BAF		Al	Ca	Cu	Fe	K	Li	Mg	Mn	Na	P	S	Zn
3/1538	tartuf	0,001	0,009	0,164	0,001	0,172	0,001	0,018	0,002	0,009	0,811	0,381	0,086
	kora	0,002	1,27	0,194	0,002	0,051	0,004	0,150	0,039	0,024	0,140	0,301	0,040
3/1544	tartuf	0,033	0,077	1,37	0,028	1,68	0,031	0,145	0,032	0,118	5,88	6,69	0,968
	kora	0,005	0,738	0,169	0,005	0,200	0,004	0,209	0,218	0,003	0,415	1,29	0,059
3/1549	tartuf	0,018	0,072	1,40	0,014	1,93	0,015	0,187	0,019	0,077	6,66	3,95	0,755
	kora	0,006	1,14	0,191	0,006	0,148	0,005	0,165	0,064	0,007	0,352	0,939	0,059
3/1562	tartuf	0,014	0,206	1,17	0,012	1,19	0,012	0,092	0,017	0,049	6,98	4,15	0,909
	kora	0,027	4,34	0,459	0,027	0,073	0,023	0,094	0,232	0,037	0,272	1,78	0,256
3/1570	tartuf	0,148	0,154	1,74	0,158	1,57	0,163	0,227	0,151	0,266	5,24	5,70	1,51
	kora	0,012	0,457	0,193	0,011	0,108	0,011	0,049	0,022	0,054	15,2	97,4	0,393
3/1573	tartuf	0,021	0,077	1,29	0,016	1,61	0,017	0,139	0,020	0,063	3,55	8,71	1,07
	kora	0,008	0,547	0,125	0,007	0,149	0,006	0,047	0,038	0,038	14,5	61,8	0,140
3/1576	tartuf	0,016	0,017	1,27	0,012	3,68	0,013	0,171	0,028	0,173	4,93	4,01	2,41
	kora	0,010	0,059	0,210	0,008	0,206	0,012	0,120	0,090	0,041	18,2	65,9	1,36
3/1583	tartuf	0,013	0,064	1,14	0,011	1,58	0,014	0,127	0,017	0,022	6,57	9,98	0,763
	kora	0,003	0,375	0,324	0,003	0,152	0,005	0,066	0,218	0,011	28,6	93,0	0,103
3/1591	tartuf	0,015	0,128	1,05	0,012	2,19	0,012	0,210	0,018	0,050	5,83	5,16	1,42
	kora	0,003	2,38	0,078	0,003	0,120	0,003	0,155	0,117	0,028	14,0	237	0,157
3/1616	tartuf	0,069	0,035	0,581	0,072	4,29	0,076	0,034	0,051	0,185	0,106	0,044	0,539
	kora	0,008	0,128	0,099	0,006	0,233	0,006	0,007	0,029	0,054	0,366	0,637	0,038
3/1647	tartuf	0,131	1,26	1,35	0,129	0,932	0,138	0,270	0,142	0,223	0,104	0,031	0,643
	kora	0,006	6,17	0,099	0,006	0,045	0,007	0,032	0,095	0,014	0,274	0,616	0,037
3/1657	tartuf	0,009	0,091	1,02	0,008	1,91	0,009	0,131	0,016	0,025	0,085	0,037	1,18
	kora	0,016	1,59	0,208	0,015	0,152	0,027	0,081	0,074	0,046	0,338	0,957	0,177
3/1894	tartuf	0,018	0,270	0,878	0,015	1,18	0,017	0,128	0,020	0,035	0,086	0,048	0,773
	kora	0,005	1,94	0,192	0,005	0,185	0,004	0,052	0,075	0,036	0,007	0,010	0,563

5. RASPRAVA

5.1. Geokemijske značajke tla

5.1.1. Fizikalno-kemijske značajke tla i njihov utjecaj na elementni sastav tartufa

Ne temelju izmjerenih pH-vrijednosti (Tablica 5) utvrđen je alkalni karakter analiziranih tala, što je posljedica pretežno karbonatne podloge na istraživanim lokalitetima. Varijacije u pH-vrijednostima vapnenačkih tala povezane su s njihovim različitim udjelima organske tvari; veći udio organske tvari povezan je s nižim pH-vrijednostima tla (Robin i sur., 2016). Na lokalitetu Novi Marof 3 (3/1576) vrijednost pH prelazi gornju granicu raspona u kojem uspijeva ljetni tartuf (5,9 - 8,4) prema Robin i sur. (2016). Budući da se radi o tlu na kojemu je drvored smreke koja značajno snižava pH-vrijednost tla (Perković i sur., 2007; Wang i sur., 2001), može se pretpostaviti da je provedena kalcifikacija ili vapnjenje tla u svrhu povišenja pH-vrijednosti što je rezultiralo i najvišom koncentracijom Ca na tom lokalitetu. Statistička analiza pokazala je negativnu korelaciju pH-vrijednosti s Mg (-0.7403, $p < 0,05$), Mn (-0.7182, $p < 0,05$) i Zn (-0.6160, $p < 0,05$) u uzorcima tla (Tablica 7) te negativnu korelaciju pH-vrijednosti s Mn (-0.5663, $p < 0,05$) u uzorcima tartufa (Tablica 8). Navedeno odgovara podacima iz Weil i Brady (2017) koji su manju dostupnost mikroelemenata u alkalnim uvjetima povezali s njihovim afinitetom prema stvaranju netopivih oksida i hidroksida s OH^- ionima.

Nije utvrđena statistički značajna korelacija CEC-a i koncentracije odabranih elemenata u tlu, tartufima i kori, kao ni s pH-vrijednosti tla, što se može povezati s malom varijacijom pH-vrijednosti analiziranih tala. Takvi podaci mogu ukazivati da komponente tla najvećim dijelom imaju stalni naboj koji je svojstvo strukture minerala i nije ovisan o pH-vrijednosti, a utječe na CEC (Roberts i sur., 2005; Weil i Brady, 2017) ili na razliku u udjelu organske tvari koja, u neutralnim do alkalnim pH uvjetima, proporcionalno povećava CEC tla (Robin i sur., 2016). Najveća vrijednost CEC-a utvrđena je u smeđem tlu na vapnencima i dolomitima (3/1549), što je u skladu s istraživanjem Tomašić i sur. (2013) za iste tipove tla, iako je sama vrijednost CEC-a tri puta veća u ovom radu (33,8 $cmol_+ kg^{-1}$ u uzorku Fužine prema Tomašić i sur. (2013) i 104,8 $cmol_+ kg^{-1}$ u uzorku 3/1549, Radići Donji). Iako je riječ o istom tipu tla, lokacije uzorkovanja su različite pa tako i vrijednost CEC-a varira.

5.1.2. Koncentracije elemenata u tlu

Koncentracije odabranih elemenata u analiziranim tlima uglavnom su više od svjetskog prosjeka prema Kabata-Pendias (2011) i McLean i Bledsoe (1992). Razlog tom odstupanju je

činjenica da se Hrvatska nalazi na području prirodno povišenih koncentracija elemenata prema FOREGS geokemijskom atlasu (Salminen i sur., 2005). Izuzetak je Na čija je prosječna koncentracija manja od koncentracija navedenih u literaturi (Halamić i Peh, 2009; Salminen i sur., 2005). Izmjerene koncentracije analiziranih elemenata u tlu slične su onima u Ivanić i sur. (2019) te odgovaraju podacima iz Geokemijskog atlasa Republike Hrvatske (Halamić i Peh, 2009).

Povišena koncentracija Al izmjerena u tlu na lokalitetu Pokrovnik (3/1538) može biti rezultat ležišta boksita na tom području (Halamić, 2009), ali i crvenice koja je bogata Al i Fe oksidima (Durn, 2003). Ovaj tip tla uzrok je i maksimuma Al i Fe izmjerenih na lokalitetu Veli Brijun (3/1894). Crvenica ima i prirodno visoke koncentracije K te niske koncentracije P (Durn, 2003), što je vidljivo na lokalitetu Pokrovnik (3/1538). Iznimno visoka koncentracija P na lokalitetu Veli Brijun (3/1894), kao i na lokalitetima Jankovac 1 i 2 (3/1616, 3/1674) te Novi Marof 4 (3/1657), mogla bi biti uzrokovana visokim udjelom organske tvari u tlu. Naime, budući da su na istim lokalitetima i iznimno visoke koncentracije S, može se pretpostaviti da je u tim tlima veći udio organske tvari koja predstavlja glavni izvor ovih elemenata (Weil i Brady, 2017). Statistička analiza (Tablica 7) pokazala je pozitivnu korelaciju u tlu za P i S (0.615, $p < 0,05$). Također, pozitivna korelacija utvrđena je za Al i Fe (0,934, $p < 0,05$), Al i K (0,835, $p < 0,05$), Fe i K (0,725, $p < 0,05$), Li i Al (0,829, $p < 0,05$), Li i Fe (0,808, $p < 0,05$) te Li i K (0,571, $p < 0,05$), elementima karakterističnim za alumosilikate.

Najzastupljeniji elementi u uzorcima tla su Al i Ca, između kojih je ustanovljena negativna korelacija (-0,835, $p < 0,05$) (Tablica 7). Ovo je najvjerojatnije posljedica razlike između dominantno alumosilikatnih i karbonatnih minerala u istraživanim tlima. Vrlo niska koncentracija Ca u uzorku Jankovac 2 (3/1647) može biti posljedica solnog stresa tj. povišene koncentracije Na koji dovodi do ispiranja Ca iz tla (Alarcón i sur., 1999). Prema Tablici 7, Ca i Na pokazuju negativnu korelaciju (-0,615, $p < 0,05$).

Koncentracije Na u tlu znatno su niže u primorskoj Hrvatskoj u odnosu na ostale dijelove Hrvatske (Halamić i Peh, 2009) te na europski prosjek. Najniže koncentracije Na određene su u tlima Dalmatinske zagore; lokaliteti Pokrovnik (3/1538), Stinice (3/1544) te Radići Donji (3/1549), dok su najviše koncentracije zabilježene u Istri, na lokalitetu Veli Brijun (3/1894). Ovo je u skladu s podacima navedenim u Geokemijskom atlasu Republike Hrvatske (Halamić i Peh, 2009) gdje tla Dalmatinske zagore karakterizira niska razina Na dok su tla Istre, osobito njen južni dio i područja pod utjecajem mora, obilježena visokim razinama Na. Najviša i najniža koncentracija Na izmjerene su na prostorno bliskim lokalitetima Poljanska (3/1583) i Jankovac 1 (3/1616). Ovo može biti posljedica različitih tipova tla na navedenim

lokalitetima; lesiviranog tla na lokalitetu Poljanska (3/1583) i smeđeg tla na vapnencu na lokalitetu Jankovac 1 (3/1616). Naime, lesivirano tlo je siromašno organskom tvari što može biti uzrok visokoj koncentraciji Na u tlu (Vukadinović i Vukadinović, 2016). Iako nemamo detaljnije podatke o organskoj tvari u ovom istraživanju, prema Cha-Um i Kirdmanee (2011) te Harron i sur. (1983) zabilježena je negativna korelacija između Na i organske tvari u tlu. Nadalje, najniža koncentracija Cu na lokalitetu Poljanska (3/1583) također se može povezati s niskom koncentracijom organske tvari u lesiviranom tlu, s obzirom da teški metali poput Cu imaju posebno izraženu sklonost stvaranju kompleksnih spojeva s organskom tvari (Rieuwerts i sur., 1998; Vukadinović i Vukadinović, 2016). Ovo je podržano i negativnom korelacijom Na i Cu (-0,634, $p < 0,05$) u analiziranim tlima (Tablica 7).

Iznimno visoka koncentracija Mg u tlu na lokalitetu Jankovac 1 (3/1616) (Tablica 4) može se objasniti utjecajem podloge izgrađene pretežito od dolomitnih stijena, u kojima je velika zastupljenost Mg i na kojima su izmjerene njegove najviše koncentracije (Halamić i Peh, 2009). Na istom lokalitetu izmjerene su i najviše koncentracije Mn i Zn, što je u skladu s pozitivnom korelacijom između ovih elemenata prema Weil i Brady (2017). Pozitivna korelacija između Mg i Mn (0,566, $p < 0,05$) te Mg i Zn (0,841, $p < 0,05$), kao i Mn i Zn (0,786, $p < 0,05$) (Tablica 7), podupire njihovu povezanost. Povišene koncentracije Zn na lokalitetima Jankovac 1 (3/1616) i Jankovac 2 (3/1647) mogu se interpretirati kao geogene (Halamić i Peh, 2009).

5.2. Koncentracije elemenata u tartufima

Koncentracije većine mjerenih elemenata (Tablica 4) u skladu su s rasponima koncentracija određenim u različitim vrstama jestivih gljiva prema Kalač (2009; 2010) (Tablica 2). Izuzetak su Al, Ca, Fe i Mn čije su izmjerene koncentracije znatno više (Tablica 4), čak i u odnosu na podatke iz Gregorčić i sur. (2020) te Kruzselyi i Vetter (2014) za ljetni tartuf (Tablica 2). Uzrok tome može biti potencijalna kontaminacija česticama tla kod podzemnih vrsta gljiva, što može uzrokovati pogrešku u određivanju koncentracija Al, Fe, Li i Mn kao elemenata karakteristično litogenog porijekla (Kalač, 2010). Uz to, usporedba podataka iz Kalač (2009; 2010) s Popović-Đorđević i sur. (2019) te Gregorčić i sur. (2020), ukazuje na to da tartufi akumuliraju više Ca i Fe u odnosu na druge vrste gljiva. Statistički značajna pozitivna korelacija Al i Ca (0,775, $p < 0,05$), Al i Fe (0,989, $p < 0,05$) te Al i Mn (0,973, $p < 0,05$) ukazuje na zajednički mehanizam njihovog unosa u tartufe (Tablica 8).

Izmjerene koncentracije P i K niže su u usporedbi s ostalim vrstama gljiva (Kalač, 2009; 2010) (Tablica 2), što je u skladu s podacima za ljetni tartuf prema Gregorčić i sur. (2020) (Tablica 2). Niže izmjerene koncentracija Cu (Tablica 4) u odnosu na one u ljetnom tartufu prema Gregorčić i sur. (2020) u skladu su s pretpostavkom da se ljetni tartufi iz Hrvatske ističu nižom koncentracijom Cu od istih vrsta na drugim lokacijama u Europi (Gregorčić i sur., 2020).

U uzorku 3/1538 (Pokrovnik) određene su najniže koncentracije svih elemenata, koje značajno odstupaju od ostalih uzoraka (Tablica 4), kao i od podataka iz prethodnih istraživanja (Gregorčić i sur., 2020). Budući da su koncentracije elemenata u uzorcima tla i kore s ovog lokaliteta prosječne (Tablica 4), te u skladu s ostalim uzorcima i literaturom (Halamić i Peh, 2009), može se pretpostaviti da su niske koncentracije svih elemenata u ovom uzorku tartufa rezultat vrlo mladog micelija; prema Kalač i Svoboda (2000) mlađi će micelij rezultirati nižim koncentracijama elemenata u plodištima.

U tartufima s lokaliteta 3/1570 (Novi Marof 1) i 3/1647 (Jankovac 2) određene su povišene koncentracije Al, Ca, Fe, Li, Mg, Mn, Na i Zn. Budući da se radi o lokalitetima sa sličnim pH-vrijednostima (Tablica 5), na različitim tipovima tla (rendzina i smeđe tlo na vapnencu), s različitim vrijednostima CEC-a (Tablica 5) i biljnim simbiontima (Tablica 3), može se pretpostaviti da su povišene koncentracije uzrokovane drugim parametrima. Navedeni elementi pokazuju pozitivne korelacije u tartufima; Na i Li (0,648, $p < 0,05$), Mg (0,621, $p < 0,05$), Al (0,643, $p < 0,05$), Ca (0,637, $p < 0,05$), Mn (0,676, $p < 0,05$), Fe (0,659, $p < 0,05$) te Zn (0,762, $p < 0,05$). Iz navedenog možemo pretpostaviti da je unos elemenata ovisan o njihovom međudjelovanju u tlu i u tartufu (Kokkoris i sur., 2019).

Uzimajući u obzir utjecaj na zdravlje čovjeka kao konzumenta i preporučeni dnevni unos elemenata prema Europskoj agenciji za sigurnost hrane (EFSA), povišene koncentracije navedenih elemenata u uzorcima tartufa 3/1570 i 3/1647 značajne su za Al, Fe i Mn čiji su preporučeni maksimalni dnevni unosi redom 10 mg, 45 mg i 11 mg (https://www.efsa.europa.eu/). Povišene koncentracije Al i Mn mogu negativno utjecati na živčani, a Fe na probavni sustav čovjeka (https://www.efsa.europa.eu/).

5.3. Koncentracije elemenata u kori

Unos elemenata u biljke temelji se na njihovoj apsorpciji iz tla preko korijena te taloženjem iz atmosfere (Watkinson i sur., 2015). Koncentracije elemenata razlikuju se u različitim dijelovima biljke i ovise o njihovoj mobilnosti unutar biljke (Olajire i Ayodele, 2003; Watkinson i sur, 2015). Povišena koncentracija metala u tlu uglavnom će uzrokovati visoku

koncentraciju metala u biljkama (Kabata-Pendias, 2011), što se u ovom radu vidi kod elemenata čiji transport prema biljci nije pomognut mikorizom poput Li i Na (Tablica 4). Najviše prosječne koncentracije elemenata u kori izmjerene su za nutrijente: Ca, K, P i S, koji su potrebni biljkama za rast i razvoj.

Najniže koncentracije K, Fe, P i S izmjerene su u uzorku 3/1538 (Pokrovnik), što se može povezati s mladim micelijem koji još nije toliko učinkovit u opskrbljivanju biljke navedenim nutrijentima budući da je upravo unos nutrijenata povećan u biljaka koje imaju mikorizne partnere (Smith i Read, 2008; Watkinson i sur., 2015). Na lokalitetu Pokrovnik (3/1538) su i u uzorcima tartufa izmjerene najniže koncentracije svih elemenata, dok vrijednosti u tlu ne odstupaju od ostalih uzoraka (Tablica 4).

Razlike u koncentracijama P i S u uzorcima kora rezultat su razlike u vrstama biljaka (Tablice 3 i 4). Niže koncentracije su određene u korama uzorkovanim na lokalitetima primorskog dijela Hrvatske, gdje su područja hrasta medunca, bijelog graba i hrasta crnike, dok su u ostalim područjima, u kojima dominiraju bukva, obični grab i hrast kitnjak, koncentracije P do 200 puta, a S i do 500 puta više.

Povišene koncentracije Ca i S u kori na lokalitetu Jastrebarski lugovi (3/1591) (Tablica 4) mogu biti rezultat drugačije vrste simbiotske biljke (hrast lužnjak), kao i vrste tla (pseudoglej), u odnosu na ostale uzorke. Slično je i na lokalitetu Novi Marof 3 (3/1576), gdje je izrazito visoka koncentracija Zn određena u smreki (Tablica 4).

Usporedba s koncentracijama teških metala iz kora prema Olajire i Ayodele (2003) te Świsłowski i sur. (2020), ukazuje na oko 10 puta niže koncentracije Cu i Zn u uzorcima kora, dok Fe i Mn sličnih koncentracija. Iako u navedenim radovima simbioza istraživanih vrsta biljaka s gljivama nije uzeta u obzir, može se pretpostaviti da mikoriza značajno doprinosi zadržavanju Cu i Zn izvan biljke zbog akumuliranja u gljivi (Kalač, 2010; Smith i Read, 2008; Weil i Brady, 2017).

5.4. Raspodjela elemenata u mikoriznom sustavu

BAF-ovi tartufa i kora (Tablica 6) ukazuju na raspodjelu elemenata u mikoriznom sustavu. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da tartufi bioakumuliraju nutrijente Ca, K, P i S čak i kad su njihove koncentracije u tlu niske, a na razliku u BAF-ovima između uzoraka utječu razlike u koncentraciji navedenih elemenata u tlu. K tome, niska koncentracija nutrijenata u tlima nije utjecala na njihovu koncentraciju u simbiotskoj biljci zbog postojanja mikoriznog sustava (Smith i Read, 2008; Watkinson i sur., 2015), što je vidljivo u uzorku 3/1583

(Poljanska) za P i S, uzorku 3/1647 (Jankovac 2) za Ca i uzorku 3/1616 (Jankovac 1) za K (Tablica 4).

Rezultati su pokazali da je BAF za Cu u tartufima veći od 1, dok je u kori u svim uzorcima manji od 1. Ovakav trend upućuje da tartufi akumuliraju Cu te onemogućavaju njegov prijelaz do biljke. Isto se može pretpostaviti i za Zn, koji također ima BAF veći od 1 u većini tartufa. Zanimljiv trend uočen je u uzorcima s lokaliteta Novi Marof 3 (3/1576) gdje je koncentracija Zn u tlu najniža, a u kori i tartufu najviša. U tartufu s ove lokacije, BAF za Zn je nešto veći nego u ostalim tartufima, a od uzoraka kora je jedini iznad 1 (Tablica 6). S obzirom da je to jedini lokalitet na kojem je simbiotski partner smreka (Tablica 3), može se pretpostaviti da je simbiotski partner utjecao na akumulaciju Zn i u tartufu.

Koncentracije Cu, K, Mg, P, S i Zn ne variraju znatno među analiziranim tartufima te se može pretpostaviti da je unos tih elemenata pod dominantnim utjecajem vrste tartufa, dok su ostali elementi (Al, Ca, Fe, Li, Mn i Na) pod utjecajem tla i njegovih geokemijskih značajki.

Tablica 7. Koeficijenti korelacije (Spearman, $p < 0,05$) za elemente u tlu i značajke tla (pH-vrijednost i CEC).

	pH	**CEC**	**Li**	**Na**	**Mg**	**Al**	**P**	**S**	**Ca**	**Mn**	**Fe**	**Cu**	**Zn**	**K**
pH		-0,209	-0,058	0,301	**-0,740**	0,091	-0,196	-0,309	-0,017	**-0,718**	-0,050	-0,170	**-0,616**	-0,033
CEC			0,214	-0,516	0,236	0,006	-0,247	0,033	0,060	0,275	0,220	0,394	0,214	-0,028
Li				0,011	0,302	**0,829**	0,093	0,451	**-0,593**	0,451	**0,808**	-0,025	0,549	**0,571**
Na					-0,253	0,368	0,236	-0,143	**-0,615**	-0,390	0,214	**-0,634**	-0,154	0,439
Mg						0,264	0,396	0,517	-0,291	**0,566**	0,341	0,251	**0,841**	0,324
Al							0,148	0,462	**-0,835**	0,165	**0,934**	-0,204	0,462	**0,835**
P								**0,615**	-0,203	0,170	0,088	-0,006	0,434	-0,055
S									-0,247	0,533	0,467	0,138	**0,764**	0,187
Ca										-0,126	**-0,703**	0,306	-0,434	**-0,835**
Mn											0,291	0,468	**0,786**	0,011
Fe												0,017	0,506	**0,725**
Cu													0,245	-0,429
Zn														0,379
K														

Tablica 8. Koeficijenti korelacije (Spearman, $p < 0,05$) za elemente u tartufima i značajke tla (pH-vrijednost i CEC).

	pH	**CEC**	**Li**	**Na**	**Mg**	**Al**	**P**	**S**	**Ca**	**Mn**	**Fe**	**Cu**	**Zn**	**K**
pH		-0,210	-0,508	-0,116	-0,293	-0,492	0,492	-0,019	-0,376	**-0,566**	-0,511	0,037	-0,035	0,450
CEC			-0,104	-0,522	-0,110	-0,132	-0,176	0,126	-0,176	-0,077	-0,066	0,116	-0,451	-0,291
Li				**0,648**	**0,560**	**0,984**	-0,066	0,209	**0,725**	**0,978**	**0,984**	0,253	0,316	-0,269
Na					**0,621**	**0,643**	0,143	-0,198	**0,637**	**0,676**	**0,659**	0,237	**0,762**	0,022
Mg						0,506	0,341	-0,099	**0,758**	**0,621**	0,544	0,223	**0,677**	0,308
Al							-0,143	0,286	**0,775**	**0,973**	**0,989**	0,303	0,259	-0,352
P								-0,220	-0,011	-0,049	-0,159	0,411	**0,575**	**0,758**
S									0,176	0,225	0,269	0,273	-0,388	-0,209
Ca										**0,786**	**0,775**	0,444	0,402	-0,099
Mn											**0,973**	0,372	0,393	-0,269
Fe												0,292	0,275	-0,346
Cu													0,361	0,127
Zn														0,459
K														

Tablica 9. Koeficijenti korelacije (Spearman, $p < 0,05$) za elemente u kori i značajke tla (pH-vrijednost i CEC).

	pH	**CEC**	**Li**	**Na**	**Mg**	**Al**	**P**	**S**	**Ca**	**Mn**	**Fe**	**Cu**	**Zn**	**K**
pH		-0,210	-0,152	0,196	0,343	-0,133	-0,033	-0,246	0,094	0,039	-0,133	0,296	0,363	0,530
CEC			0,000	-0,039	0,291	0,132	-0,473	-0,280	0,385	-0,313	0,132	0,253	-0,176	-0,258
Li				0,401	-0,236	**0,890**	0,209	0,049	-0,055	-0,159	**0,890**	0,363	0,506	0,006
Na					-0,440	**0,571**	0,418	0,319	-0,198	-0,071	**0,571**	0,143	**0,780**	0,225
Mg						-0,269	**-0,577**	-0,418	**0,610**	0,082	-0,269	0,533	-0,407	0,132
Al							0,088	0,011	0,055	-0,006	1,000	0,324	0,528	0,220
P								**0,659**	**-0,593**	-0,297	0,088	-0,258	0,489	0,198
S									-0,088	0,039	0,011	**-0,626**	0,159	-0,170
Ca										0,181	0,055	0,093	-0,484	-0,033
Mn											-0,006	-0,192	-0,231	0,225
Fe												0,324	0,5278	0,220
Cu													0,247	0,258
Zn														0,247
K														

6. ZAKLJUČAK

U ovom radu istražen je utjecaj geokemijskih značajki tla na kemizam ljetnog tartufa (*Tuber aestivum*). Sakupljeni uzorci obuhvaćaju različite biogeografske regije Hrvatske kao i tipove tla. Također, analiziran je elementni sastav kore simbiotskog drveća kako bi se dobio uvid u raspodjelu elemenata u mikoriznom sustavu.

Istraživana tla su alkalnog karaktera i pokazuju veliki raspon CEC-a. Koncentracije analiziranih elemenata u tlima uglavnom su iznad svjetskog prosjeka, potvrđujući prirodno povišene koncentracije na ovom području. Nije utvrđena statistički značajna korelacija CEC-a s pH-vrijednosti i koncentracijom odabranih elemenata u tlu, tartufima i kori.

Koncentracije većine elemenata u tartufima nalaze se unutar raspona koncentracija u jestivim gljivama. Izuzetak su povišene koncentracije Al, Ca, Fe i Mn te niže koncentracije P i K. Određene su niže koncentracije Cu u odnosu na ljetne tartufe drugih područja što ukazuje na regionalnu specifičnost. Najviše prosječne koncentracije elemenata u kori i tartufima pripadaju nutrijentima Ca, K, P i S, u različitom slijedu zastupljenosti.

Razlike u koncentracijama Ca, P, S i Zn u uzorcima kora mogu se povezati s različitim vrstama biljaka u mikoriznom sustavu.

Bioakumulacijski potencijal ukazuje na raspodjelu elemenata u mikoriznom sustavu; u tartufima je utvrđen za nutrijente K, P i S te mikroelemente Cu i Zn, a u kori za nutrijente Ca, P i S. Dobiveni rezultati potvrđuju sposobnost akumulacije metala mikoriznih gljiva kako bi spriječile njihov prijelaz u simbiotsku biljku kao i poboljšanu opskrbu biljke nutrijentima.

Usporedbom varijacija u koncentracijama elemenata između analiziranih tartufa, mogu se razlikovati elementi čiji je unos pod dominantnim utjecajem vrste tartufa (Cu, K, Mg, P, S i Zn) te elementi čiji je unos pod dominantnim utjecajem tla i njegovih geokemijskih značajki (Al, Ca, Fe, Li, Mn i Na).

Navedeni rezultati ukazuju da je različita zastupljenost elemenata u ljetnom tartufu rezultat međudjelovanja više čimbenika; tipa tla i njegovih značajki, ali i simbiotskih biljaka. U nekim uzorcima tartufa izmjerene su vrlo visoke koncentracije Al, Fe i Mn što može imati negativan utjecaj na zdravlje čovjeka kao konzumenta. S obzirom na dobivene rezultate, potrebna je dodatna mineraloška analiza kao i podaci o udjelu organske tvari kako bi se dobio potpuniji uvid u povezanost značajki tla s kemizmom plodišta ljetnog tartufa.

7. LITERATURA

Alarcón, A. L., Madrid, R., Egea, C., Guillén, I. (1999); Calcium deficiency provoked by the application of different forms and concentrations of Ca^{2+} to soil-less cultivated muskmelons, *Scientia Horticulturae*, 81 (1), 89-102

Alegro, A. (2000): *Vegetacija Hrvatske*, Botanički zavod PMF-a, Zagreb

Ali, H., Khan, E., Ilahi, I. (2019): Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation, *Journal of Chemistry*, 2019, 14 stranica

Bellina-Agostinone, C., D'Antonio, M., Pacioni, G. (1987): Odour composition of the summer truffle (*Tuber aestivum*); *Transactions of the British Mycological Society*, 88, 568-569

Bogunović, M., Bensa, A. (2004): Tla krša – temeljni čimbenik biljne proizvodnje, u: *Hrvatski krš i gospodarski razvoj* (ur. Biondić, B., Božićević, J.), Gospić, 13.12.2004, Centar za krš, Gospić, 41-50

Bogunović, M., Vidaček, Ž., Racz, Z., Husnjak, S., Sraka, M. (1997): Namjenska pedološka karta Republike Hrvatske i njena uporaba, *Agronomski glasnik*, 59 (5-6), 363–365

Bolchi, A., Ruotolo, R., Marchini, G., Vurro, E., Sanità di Toppi, L., Kohler, A., Tisserant, E., Martin, F., Ottonello, S. (2011): Genome-wide inventory of metal homeostasis-related gene products including a functional phytochelatin synthase in the hypogeous mycorrhizal fungus *Tuber melanosporum*, *Fungal Genetics and Biology*, 48, 573-584

Božac, R. (2008): *Enciklopedija gljiva*, Školska knjiga, Zagreb

Božac, R., Širić, I., Kos, I. (2012a): *Tuber decipiens*, a new black *Tuber* species from Croatia, *Periodicum Biologorum*, 114 (1), 125-128

Božac, R., Širić, I., Kos, I. (2012b): *Tuber donnagotto*, a new winter truffle species from Istria, Croatia, *Acta Botanica Croatica*, 71 (2), 279-284

Busenberg, E., Clemency, C. V. (1973): Determination of the cation exchange capacity of clays and soils using an ammonia electrode, *Clays and Clay Minerals*, 21, 213-217

Carris, L. M., Little, C. R., Stiles, C. M. (2012): *Introduction to Fungi*, The Plant Health Instructor, The American Phytopathological Society

Cha-Um, S., Kirdmanee, C. (2011): Remediation of salt-affected soil by the addition of organic matter: an investigaton into improving glutinous rice productivity, *Scientia Agricola*, 68 (4), 406-410

Daguerre, Y., Plett, J. M., Veneault-Fourrey, C. (2016): Signaling pathways driving the development of ectomycorrhizal symbiosis, u: *Molecular Mycorrhizal Symbiosis* (ur. Martin, F.), John Wiley and Sons Inc., 141–157

Durn, G. (2003): Terra rossa in the Mediterranean region: parent materials, composition and origin, *Geologia Croatica*, 56 (1), 83-100

Falandysz, J., Borovička, J. (2012): Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: Health benefits and risks, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 477-501

Falandysz, J., Szymczyk, K., Ichihashi, H., Bielawski, L., Gucia, M., Frankowska, A., Yamasaki, S. (2001): ICP/MS and ICP/AES elemental analysis (38 elements) of edible wild mushrooms growing in Poland, *Food Additives and Contaminants*, 18 (6), 503-513

Fiket, Ž., Mikac, N., Kniewald, G. (2016): Mass fractions of forty-six major and trace elements, including rare earth elements, in sediment and soil reference materials used in environmental studies, *Geostandards and Geoanalytical Research*, 41, 123-135

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

Gadd, G. M. (1993): Interactions of fungi with toxic metals, *New Phytologist*, 124, 25-60

Galović, L. (2009): Pedologija, u: *Geokemijski atlas Republike Hrvatske* (ur. Halamić, J., Miko, S.), Hrvatski geološki institut, 17-20

Gogan, A. C., Nagy, Z., Degi, Z., Bagi, I., Dimeny J. (2012): Ecological characteristics of a Hungarian summer truffle (*Tuber aestivum* Vittad.) producing area, *Acta Mycologica*, 47, 133-138

Gregorčić, S. H., Strojnik, L., Potočnik, D., Vogel-Mikuš, K., Jagodić, M., Camin, F., Zuliani, T., Ogrinc, N. (2020): Can we discover truffle's true identity?, *Molecules*, 25 (9), 2217

Gryndler, M. (2016): True truffle host diversity, u: *True Truffle (Tuber spp.) in the World: Soil Ecology, Systematics and Biochemistry* (ur. Zambonelli, A., Iotti, M., Murat, C.), Soil Biology, 267-281

Gryndler, M., Černa, L., Bukovska, P., Hršelova, H., Jansa, J. (2014): *Tuber aestivum* association with non-host roots, *Mycorrhiza*, 24, 603-610

Gryndler, M., Hršelová, H., Soukupová, L., Streiblová, E., Valda, S., Borovička, J., Gryndlerová, H., Gažo, J., Miko, M. (2011): Detection of summer truffle (*Tuber aestivum* Vittad.) in ectomycorrhizae and in soil usin specific primers, *FEMS Microbiology Letters*, 318 (1), 84-91

Halamić, J. (2009): Geologija, u: *Geokemijski atlas Republike Hrvatske* (ur. Halamić, J., Miko, S.), Hrvatski geološki institut, 12-17

Halamić, J., Peh, Z. (2009): Opis karata prostorne raspodjele elemenata, u: *Geokemijski atlas Republike Hrvatske* (ur. Halamić, J., Miko, S.), Hrvatski geološki institut, 30-86

Harron, W. R. A., Webster, G. R., Cairns, R. R. (1983): Relationship between exchangeable sodium and sodium adsorption ratio in a solonetzic soil association, *Canadian Journal of Soil Science*, 63 (3), 461-467

Hilszczańska, D., Szmidla, H., Sikora, K., Rosa-Gruszecka, A. (2018): Soil properties conducive to the formation of *Tuber aestivum* Vitt. fruiting bodies, *Polish Journal of Environmental Studies*, 28, 1713-1718

Hrvatski geološki institut (2009): *Geološka karta Republike Hrvatske 1:300000*, Hrvatski geološki institut, Zavod za geologiju, Zagreb

Ivanić, M., Fiket, Ž., Medunić, G., Furdek Turk, M., Marović, G., Senčar, J., Kniewald, G. (2019): 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

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

Kabata-Pendias, A. (2011): *Trace Elements in Soils and Plants*, *Fourth edition*, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton

Kalač, P. (2009): Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review, *Food Chemistry*, 113, 9-16

Kalač, P. (2010): Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000-2009, *Food Chemistry*, 122, 2-15

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

Kokkoris, V., Massas, I., Polemis, E., Koutrotsios, G., Zervakis, G. I. (2019): Accumulation of heavy metals by wild edible mushrooms with respect to soil substrates in the Athens metropolitan area (Greece), *Science of the Total Envronment*, 685, 280-296

Kruzselyi, D., Vetter, J. (2014): Complex chemical evaluation of the summer truffle (*Tuber aestivum* Vittadini) fruit bodies, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87, 291-295

Lee, H., Nam, K., Zahra, Z., Farooqi, M. Q. U. (2020): Potentials of truffles in nutritional and medicinal applications: a review, *Fungal Biology and Biotechnology*, 7, 9

Marjanović, Ž., Grebenc, T., Marković, M., Glišić, A., Milenković, M. (2010): Ecological specificities and molecular diversity of truffles (genus *Tuber*) originating from mid-west of the Balkan Peninsula, *Sydowia,* 62 (1), 67-87

Martin, F. (2011): Unearthing the truffle genome, *New Phytologist*, 189, 645-646

McLean, J. E., Bledsoe, B. E. (1992): *Behavior of Metals in Soils,* Technology Innovation Office, Office of Solid Waste and Emergency Response, US EPA, Washington, DC

McNaught, A. D., Wilkinson, A. (1997): *Compendium of Chemical Terminology, 2nd edition*, IUPAC, Blackwell Scientific Publications, Oxford, dostupno online: https://goldbook.iupac.org/

Molinier, V., Peter, M., Stobbe, U., Egli, S. (2016): The burgundy truffle (*Tuber aestivum* syn. *uncinatum*): truffle species with a wide habitat range over Europe, u: *True Truffle (Tuber spp.) in the World: Soil Ecology, Systematics and Biochemistry* (ur. Zambonelli, A., Iotti, M., Murat, C.), Soil Biology, 33-49

Moser, B., Büntgen, U., Molinier, V., Peter, M., Sproll, L., Stobbe, U., Tegel, W., Egli, S. (2017): Ecological indicators of *Tuber aestivum* habitats in temperate European beech forests, *Fungal Ecology,* 29, 59-66

Olajire, A. A., Ayodele, E. T. (2003): Study of atmospheric pollution levels by trace elements analysis of tree bark and leaves, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 17 (1), 11-17

Patel, S., Rauf, A., Khan, H., Khalid, S., Mubarak, M. S. (2017): Potential health benefits of natural products derived from truffles: A review, *Trends in Food Science & Technology*, 70, 1-8

Perković, I., Pernar, N., Vrbek, B., Bakšić, D., Pilaš, I., Presečan, M. (2007): Utjecaj kulture obične smreke na tlo, *Šumarski institut Jastrebarsko*, 42 (2), 95-107

Popović-Đorđević, J., Marjanović, Ž., Gršić, N., Adžić, T., Popović, B., Bogosavljević, J., Brčeski, I. (2019): Essential elements as a distinguishing factor between mycorrhizal potentials of two cohabiting truffle species in riparian forest habitat in Serbia, *Chemistry and Biodiversity*, 16 (4)

Rieuwerts, J. S., Thornton, I., Farago, M. E., Ashmore, M. R. (1998): Factors influencing metal bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals, *Chemical Speciation and Bioavailability*, 10 (2), 61-75

Roberts, D., Nachtegaal, M., Sparks, D. L. (2005): Speciation of metals in soils, u: *Chemical Processes in Soils* (ur. Tabatabai, M. A., Sparks, D. L.), Soil Science Society of America, Wisconsin, 619-654

Robin, C., Goutal-Pousse, N., Le Tacon, F. (2016): Soil characteristics for *Tuber aestivum* (Syn. *T. uncinatum*), u: *True Truffle (Tuber spp.) in the World: Soil Ecology, Systematics and Biochemistry* (ur. Zambonelli, A., Iotti, M., Murat, C.), Soil Biology, 211-233

Robinson, B. H., Yalamanchali, R., Reiser, R., Dickinson, N. M. (2018): Lithium as an emerging environmental contaminant: mobility in the soil-plant system, *Chemosphere*, 197, 1-6

Rossbach, M., Stieghorst, C., Polkowska-Motrenko, H., Chajduk, R., 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 (2), 1-9

Rzymski, P., Niedzielski, P., Siwulski, M., Mleczek, M., Budzyńska, S., Gąsecka, M., Poniedziałek, B. (2017): Lithium biofortification of medicinal mushrooms *Agrocybe cylindracea* and *Hericium erinaceus*, *Journal of Food Science and Technology*, 54 (8), 2387-2393

Salminen, R., Batista, M. J., Bidovec, M., Demetriades, A., De Vivo, B., De Vos, W., Duris, M., Gilucis, A., Gregorauskiene, V., Halamić, J., Heitzmann, P., Lima, A., Jordan, G., Klaver, G., Klein, P., Lis, J., Locutura, J., Marsina, K., Mazreku, A., O'Connor, P. J., Olsson, S. Å., Ottesen, R. T., Petersell, V., Plant, J. A., Reeder, S., Salpeteur, I., Sandström, H., Siewers, U., Steenfelt, A., Tarvainen, T. (2005): *FOREGS Geochemical atlas of Europe, Part 1: Background information, methodology and maps*, Geological Survey of Finland, Espoo, dostupno online: http://weppi.gtk.fi/publ/foregsatlas/index.php

Saritha, K. V., Prakash, B., Khilare, V. C., Khedkar, G. D., Reddy, Y. M., Khedkar, C. D. (2016): Mushrooms and truffles: role in the diet, u: *Encyclopedia of Food and Health* (ur. Caballero, B., Finglas, P., Toldrá, F.), Academic Press, 1-8

Shah, N., Usvalampi, A., Chaudhary, S., Seppänen-Laakso, T., Marathe, S., Bankar, S., Singhal, R., Shamekh, S. (2020): An investigation on changes in composition and antioxidant potential of mature and immature summer truffle (*Tuber aestivum*), *European Food Research and Technology*, 246, 723-731

Smith, S. E., Read, D. J. (2008): *Mycorrhizal symbiosis, 3rd edition*, Academic Press, Cambridge

Sparks, D. L. (1995): *Environmental Soil Chemistry*, Academic Press, San Diego

Steidinger, B. S., Bhatnagar, J. M., Vilgalys, R., Taylor, J. W., Qin, C., Zhu, K., Bruns, T. D., Peay, K. G. (2020): Ectomycorrhizal fungal diversity predicted to substantially decline due to climate changes in North American Pinaceae forests, *Journal of Biogeography*, 47 (3), 772-782

Świsłowski, P., Kříž, J., Rajfur, M. (2020): The use of bark in biomonitoring heavy metal pollution of forest areas on the example of selected areas in Poland, *Ecological Chemistry and Engineering*, 27 (2), 195-210

Škorić, A., Filipovski, G., Ćirić, M. (1985): *Klasifikacija zemljišta Jugoslavije,* Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine, Sarajevo

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

Tkalčec, Z., Mešić, A., Matočec, N., Kušan, I. (2008): *Crvena knjiga gljiva Hrvatske*, Državni zavod za zaštitu prirode i Ministarstvo kulture, Zagreb

Tomašić, M., Zgorelec, Ž., Jurišić, A., Kisić, I. (2013): Cation exchange capacity of dominant soil types in the Republic of Croatia, *Journal of Central European Agriculture*, 14 (3), 84-98

Urban, A., Pla, T. (2010): Conservation strategies for *T. aestivum*, *Austrian Journal of Mycology*, 19, 273-279

Velić, I., Vlahović, I. (2009): *Tumač geološke karte Republike Hrvatske 1:300000*, Hrvatski geološki institut, Zagreb

Vetter, J. (2005): Lithium content of some common edible wild-growing mushrooms, *Food Chemistry*, 90, 31-37

Vukadinović V., Vukadinović V. (2016): *Tlo, gnojidba i prinos*, vlastita naklada, elektroničko izdanje, Osijek

Vukelić, J., Mikac, S., Baričević, D., Bakšić, D., Rosavec, R. (2008): *Šumska staništa i šumske zajednice u Hrvatskoj*, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb

Zambonelli, A., Iotti, M., Hall, I. (2015): Current status of truffle cultivation: recent results and future perspectives, *Italian Journal of Mycology*, 44, 31-40

Zgrablić, Ž., Brenko, A., Matočec, N., Kušan, I., Fornažar, A., Čulinović, J., Prekalj, G. (2014): Strategija održivog tartufarstva u Istarskoj županiji, *Istarska županija, Upravni odjel za poljoprivredu, šumarstvo, lovstvo, ribarstvo i vodoprivredu*, Pazin

Zjalić, S., Scapari, M., Čuka, A., Šikić, Z., Reverberi, M. (2020): The first report of truffles (*Tuber aestivum* Vittad.) in Zadar County, *Geoadria*, 25 (1)

Wang, Z., Göttlein, A., Bartonek, G. (2001): Effects of growing roots of Norway spruce (*Picea abies*) and European beech (*Fagus sylvatica*) on rhizosphere soil solution chemistry, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164 (1), 35-41

Watkinson, S. C., Boddy, L., Money, N. P. (2015): *The Fungi, 3rd edition*, Academic Press, San Diego

Weil, R. R., Brady, N. C. (2017): *The nature and properties of soils, 15th edition*, Pearson Education, Columbus

Willis, K. J. (2018): *State of the World's Fungi 2018*, *Report*, Royal Botanic Gardens, Kew

Wilschefski, S. C., Baxter, M. R. (2019): Inductively coupled plasma mass spectrometry: Introduction to analytical aspects, *The Clinical Biochemist Reviews*, 40 (3), 115-133

Internetski izvori

www.mycobank.org
Fungal Databases, Nomenclature and Species Banks (pristupljeno 16.08.2020.)

http://mycolsoc.hr/
Hrvatsko mikološko društvo (pristupljeno 03.09.2020.)

https://hirc.botanic.hr/fcd/
Flora Croatica Database (pristupljeno 01.10.2020.)

http://pedologija.com.hr
Digitalna pedološka karta Republike Hrvatske (pristupljeno 25.10.2020.)

https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_80_1658.html
Zakon o zaštiti prirode, NN 80/2013 (1658) (pristupljeno 22.11.2020.)

https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018_02_15_316.html
Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o zaštiti prirode, NN 15/2018 (316) (pristupljeno 22.11.2020.)

https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017_11_114_2663.html
Pravilnik o sakupljanju zavičajnih divljih vrsta, NN 114/2017 (2663) (pristupljeno 22.11.2020.)

https://www.efsa.europa.eu/
Europska agencija za sigurnost hrane, EFSA (pristupljeno 01.02.2021.)