

Sadržaj željeza, cinka i bakra u određenim jestivim gljivama Parka prirode Medvednica

Markota, Tomislava

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:816581>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Tomislava Markota

**Sadržaj željeza, cinka i bakra u određenim
jestivim gljivama Parka prirode
Medvednica**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Agroekologija – Mikrobna biotehnologija u poljoprivredi

Tomislava Markota

**Sadržaj željeza, cinka i bakra u određenim
jestivim gljivama Parka prirode
Medvednica**

DIPLOMSKI RAD

Mentor: doc. dr. sc. Ivica Kos

Neposredni voditelj: doc.dr.sc. Ivan Širić

Zagreb, 2016

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana _____

s ocjenom _____ pred Povjerenstvom u sastavu:

1. doc.dr.sc. Ivica Kos _____

2. prof.dr.sc. Milan Poljak _____

3. prof.dr.sc. Marija Bujan _____

Sažetak

Koncentracija željeza, cinka i bakra utvrđivana je u 10 vrsta jestivih gljiva na području Parka prirode Medvednica. Sličnost između analiziranih vrsta ustanovljena je klaster analizom temeljenom na koncentraciji već spomenutih metala u klobuku i stručku. Analize teških metala provedene su metodom X - ray fluorescentne spektrometrije. Najviša koncentracija željeza (153.96 mg/kg) utvrđena je u vrsti *Tricholoma portentosum*, a najviša koncentracija cinka (90.60 mg/kg) u vrsti *Tricholoma terreum*. Najviša koncentracija bakra utvrđena je u vrsti *Macrolepiota procera* (78.18 mg/kg). Koncentracije cinka i bakra bile su značajno različite ($p < 0,05$; $p < 0,001$) između istraživanih saprofitskih i ektomikoriznih gljiva. Znatno viša koncentracija analiziranih elemenata pronađena je u klobuku u odnosu na stručak u svih vrsta gljiva. Sve vrste gljiva okarakterizirane su kao slabi bioakumulatori za željezo. Klaster analiza izvedena na temelju akumulacije proučenih metala pokazala je veliku sličnost vrsta gljiva koje pripadaju istom rodu i djelomičnu sličnost vrsta iz iste ekološke pripadnosti.

Ključne riječi: teški metali, jestive gljive, bioakumulacijski potencijal, ekologija

Abstract

The concentration of Fe, Zn and Cu in ten edible mushrooms in Medvednica Nature Park was determined. The similarity between the studied species was determined by cluster analysis based on concentrations of the aforementioned metals in the fruit bodies. The analyses of heavy metals were carried out by X-ray fluorescence spectrometry. The highest concentrations of Fe (153.96 mg/kg) was determined in *Tricholoma portentosum*, and the highest concentration of Cu was determined in *Macrolepiota procera* (78.18 mg/kg). The concentrations of Zn and Cu significantly differed ($p < 0,05$; $p < 0,001$) between examined saprophytic and ectomycorrhizal mushrooms. A considerably higher concentration of the analysed elements was found in the cap than in the stipe for all mushrooms species. All mushrooms species were bio-exclusors of Fe in relation to the underlying soils. Cluster analysis performed on the basis of the bioaccumulation of the studied metals revealed great similarity of mushrooms species belonging to the same genus and partial similarity of species of the same ecological affiliation.

Key words: heavy metals, edible mushrooms, bioaccumulation potencial, ecology.

SADRŽAJ

1. Uvod	1
2. Pregled literature	3
2.1 Teški metali u okolišu.....	3
2.2 Željezo – Fe	4
2.3 Cink – Zn	6
2.4 Bakar – Cu	7
2.5 Morfologija i biologija gljiva	9
2.5.1 Morfologija i biologija jestivih saprofitskih gljiva	11
2.5.2 Morfologija i biologija jestivih simbiotskih gljiva	16
3. Materijali i metode istraživanja.....	21
3.1 Analiza teških metala.....	22
3.2 pH vrijednost i organska tvar.....	22
4. Rezultati	23
4.1 Teški metali u supstratu tla	23
4.2 Koncentracija metala i biokoncentracijski faktor u gljivama	23
4.3 Morfološki dijelovi	25
4.4. Usporedba koncentracije teških metala između saprofitnih i ektomikoriznih vrsta gljiva	25
4.5 Klaster analiza	26
5. Rasprava	28
6. Zaključci.....	31
7. Popis Literature	32

1.Uvod

Onečišćenje životne sredine u kojoj živimo, osobito tla i vode prvenstveno su uzrokovali povećanje broja stanovništva, intenzivna industrijalizacija i urbanizacija. Sve veća prisutnost štetnih supstanci u okolišu, a osobito teških metala i raznih kancerogenih spojeva, postao je neizostavni problem današnjice. U Republici Hrvatskoj je nakon napada i stradavanja gradova i industrijskih područja tijekom rata došlo do oštećenja rafinerija, tvornica kemikalija, transformatora i skladišta oružja. Sve to uzrokovalo je istjecanja brojnih opasnih kemikalija kroz tlo u podzemne tokove rijeka, onečišćujući tako vodene tokove, šumska tla i obradive površine. Zbog sve veće prisutnosti teških metala i toksičnih elemenata u okolišu u svijetu se provode brojna znanstvena istraživanja usmjerena na očuvanje i zaštitu životne sredine. Kako bi uspješno riješili ili kontrolirali onečišćenje životne sredine potrebno je izvršiti monitoring koncentracije štetnih supstanci, osobito teških metala. Dosadašnja istraživanja ukazuju na visoku osjetljivost saprofitskih i ektomikoriznih vrsta gljiva na onečišćenje supstrata i vode teškim metalima.

Gljive su zasebna skupina živih organizama, iznimno bitne nutritivne, farmaceutske i ekološke vrijednosti. Gljive imaju ključnu ulogu u većini sustava biosfere, jer su u mogućnosti razgraditi supstrat na kojem rastu i razvijaju plodna tijela. Plodišta gljiva su cijenjena zbog njihovih kemijskih (Isildak i sur., 2004) i nutritivnih svojstava (Manzi sur. 1999) te zbog njihove teksture i okusa. Međutim, poznato je da gljive mogu akumulirati visoke koncentracije teških metala, toksičnih metalnih elemenata, metaloida i radionukleida (Kalač, 2010; Veter, 2004; Campos i Tejera, 2011). Sadržaj teških metala u mnogim gljivama je znatno veći (Kalač, 2010) u odnosu na sadržaj u voću i povrću (Turkdogan i sur., 2003). Međutim, mehanizam usvajanja metala još uvijek nije dovoljno poznat (Campos i Tereja, 2011). Micelij gljive može akumulirati znatno veću koncentraciju nekih teških metala nego supstrat na kojem se razvija i živi. Gustoća i dubina micelija koji živi u tlu nekoliko mjeseci ili godina utječe na koncentraciju metala u plodištu (Garcia i sur., 2009). Prema rezultatima istraživanja Nikkarinena i Martanena 2004; Garcia i sur., 2009; Aloupi i sur., 2012; Petkovšek i Pokorny, 2013., vrste gljiva i okolišni čimbenici te svojstva tla (pH, organska tvar, redoks potencijal, vrsta supstrata, geokemija supstrata, udaljenost od izvora onečišćenja, itd.) mogu utjecati na količinu ili postotak metala u gljivama. Nadalje, izračunavanjem biokoncentracijskog faktora kao kvocijenta koncentracije teških metala u gljivama i supstratu tla, moguće je odrediti prikladnost uporabe gljiva kao bioindikatora onečišćenja okoliša (Falandysz i sur., 2007). Prikupljanje gljiva postalo je jako popularno u Središnjoj i u

Sjevernoj Europi, ali i u Hrvatskoj (Širić i sur., 2014). Međutim, spoznaje o akumulacijskom potencijalu jestivih saprofitskih i ektomikoriznih gljiva u Hrvatskoj jako su skromne.

Park prirode Medvednica je smješten u blizini najvećeg urbanog i industrijskog centra u Hrvatskoj, glavnog grada Zagreba, što može prouzrokovati povišene koncentracije teških metala u gljivama. U Parku prirode Medvednica identificirana je 81 vrsta gljiva ali nije bilo istraživanja o njihovom postotku metala. Stoga ciljevi ovog rada su bili : 1) utvrditi koncentraciju željeza, cinka i bakra u samoniklim jestivim vrstama gljiva i supstrata na kojem one rastu; 2) utvrditi mogućnost akumulacije teških metala u plodištima gljiva; 3) utvrditi raspodjelu željeza, cinka i bakra u anatomskim dijelovima plodišta (klobuk i stručak); 4) izraditi klaster analizu s obzirom na koncentraciju istraživanih metala u gljivama.

2. Pregled literature

2.1 Teški metali u okolišu

Željezo, cink i bakar pripadaju skupini teških metala, a metali čine oko 80% od poznatih elemenata prisutnih u biosferi te su od iznimnog značaja za industriju i infrastrukturu. Od davnina, a posebice od industrijske revolucije metali su sveprisutni u našem okruženju. Akumuliraju se u kopnenim i vodenim staništima, što može biti povezano s negativnim učincima na životne zajednice i ljudsko zdravlje, ako se radi o toksičnim elementima. Sparks (2005) navodi trinaest teških metala i metaloida (Ag, As, Be, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Se, Ti, Zn) kao prioritetnim zagađivačima. Navedeni elementi potječu iz prirodnih izvora (stijene i minerali) ili iz antropogenih izvora (poljoprivreda, metalurgija, rudarstvo, kanalizacijski mulj, odlaganje otpada) (Landa, 2005; Gilmour i Riedel, 2009). Metali se definiraju se s obzirom na svoje fizikalne osobine: kruti oblik, visoku refleksiju, električnu i toplinsku provodljivost te mehaničke osobine čvrstoću i duktilnost (sposobnost deformacije bez loma). Nadalje, prema navodima Huang i sur. (2004), metali čine značajne prirodne komponente tla. Prisutnost metala u mineralnoj frakciji tla tvori bazen potencijalno mobilnih metalnih elemenata, mnoštvo esencijalnih hranjivih tvari za biljke i gljive. Također, metali su prisutni u organskim frakcijama, a najčešće se javljaju u vezanim oblicima kao rezultat razgradnje organske tvari. Metali su izravno/neizravno uključeni u sve aspekte rasta gljiva, metabolizam i diferencijaciju (Gadd, 1993). Teški metali i njihovi spojevi uzajamno djeluju s gljivama na različite načine ovisno o vrsti metala, gljive i okoliša, dok strukturne komponente i metaboličke aktivnosti utječu na specifikaciju metala. Brojni metali su neophodni, esencijalni za život, kao npr.: Cu, Zn, Co, Mn i Fe, ali pokazuju toksičnost iznad određene koncentracije, koja varira ovisno o organizmu, fizikalno-kemijskim svojstvima metala te okolišnim čimbenicima (Gadd, 1993).

Svi živi organizmi zahtijevaju unos esencijalnih metala poput Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni i Co te njihov nedostatak može biti štetan za rast i razvoj organizama. Najbolji primjer su anemija kod željeza, dijabetes kod manjka kroma, problemi u rastu kod manjka nikla. Trenutno se procjenjuje da oko 2/3 svjetske populacije ima zdravstvenih poteškoća uzrokovanih nedovoljnom ishranjenosti esencijalnim mikrohranjivima. U prilog tome ide i konferencija u Kopenhagenu, gdje je utvrđen kritični nedostatak Fe, Zn i vitamina A u ljudi (Širić, 2014). Nadalje, odsutnost i prisutnost pojedinih metala možemo povezati s određenim bolestima ili stanjima, a pojedini metali se povezuju s akutno toksičnim, imunogenim,

kancerogenim, tetratogenim, nefrotoksičnim, spermiotoksičnim, neurotoksičnim, alergogenim i genotoksičnim učincima (WHO, 1997). Bitno je naglasiti da teški metali imaju tendenciju dugog zadržavanja u organizmu, a posebno u organima i tkivima za koje imaju afinitet, (kosti, bubrezi, jetra ili mozak).

Prisutnost teških metala u tlu posljedica je prirodnih i antropogenih procesa. Prirodni su pedogenetski procesi kojima tlo nasljeđuje teške metale iz matičnog supstrata, a antropogeni procesi uključuju urbanizaciju, industrijalizaciju, promet i poljoprivrednu proizvodnju. U udaljenim područjima s malim antropogenim utjecajem na atmosfersku depoziciju, teški metali u tlima su većinom porijeklom iz matičnog supstrata, dok su u urbanim i poljoprivrednim područjima koncentracije teških metala u tlima veće od koncentracija u matičnim supstratima zbog kontinuiranog unosa u ekosustav. Geogeno porijeklo ekološki najinteresantnijih teških metala, Cu, Zn, Cd i Pb, najčešće je povezano sa sumpornim mineralima koji u okolišu relativno brzo oksidiraju, te se metalni kation odvaja od sumpora u ranoj fazi trošenja minerala (He i sur., 2005). Nadalje porijeklo teških metala može biti i antropogeno. Antropogeni unos teških metala u ekosustav obuhvaća brojne aktivnosti čovjeka kao što su: proizvodnja energije i goriva, rudarstvo, metalurgija, industrija, transportni sustavi, vojne aktivnosti te poljoprivreda. Jedan od značajnijih doprinosa u povećanju koncentracije teških metala u tlu ima poljoprivreda. Sager, (2008) navodi da je kontaminacija tla s Pb i Zn uglavnom atmosferskom depozicijom, Cr i C uglavnom su porijeklom iz gnojiva, dok atmosferska depozicija i gnojidba imaju podjednak značaj u kontaminaciji tala s As, Cd i Ni. Također, poljoprivredna proizvodnja doprinosi akumulaciji teških metala u površinskim slojevima poljoprivrednih tala primjenom različitih agrotehničkih mjera.

2.2 Željezo – Fe

Željezo je teški metal, esencijalni element, jer je sastavni dio svih staničnih procesa uključujući disanje, redoks procese, energetske metabolizam, DNA sintezu, regulaciju gena (Andrews, 1998). U tlu i biljkama se nalazi kao divalentni i trovalentan kation (Fe^{2+} , Fe^{3+}), ili u odgovarajućim spojevima. Vrlo lako mijenja valentno stanje i može graditi kompleksne spojeve, a u biljkama je uglavnom u Fe(III) oksidacijskom stanju. Njegovo podrijetlo u tlu vezano je za mnogobrojne primarne i sekundarne minerale. U procesima njihovog raspadanja dolazi do oslobađanja željeza, koje u kiselim tlima vrlo brzo iznova gradi sekundarne

minerale. Svježe istaloženi minerali željeza u obliku su amorfnih koloida pristupačnih za ishranu bilja (Vukadinović i Vukadinović 2011). Željezo je najrasprostranjeniji metalni element te četvrti element po zastupljenosti u zemljinoj kori gdje najčešće se pojavljuje u obliku silikata, Fe-oksida i Fe-hidroksida, ali u ovim oblicima nije pristupačan gljivama niti biljkama (Marschner, 1995). Rezerve željeza u tlu su najvećim dijelom anorganske prirode, a ukupni sadržaj željeza obično je između 0,5 i 4,0 % (prosječno 3,2 %). Sadrže ga karbonati, oksidi, silikati, sulfidi, a najznačajniji su hematit ($\alpha\text{-Fe}^2\text{O}^3$) i getit ($\alpha\text{-FeOOH}$). U tlima s puno organske tvari organske rezerve željeza mogu biti značajne i to kao Fe-oksi-hidroksi spojevi i Fe-helati. U ionskom obliku nalazi se kao Fe^{3+} , osim u vrlo kiseloj sredini kada prevladava Fe^{2+} . Porastom kiselosti i uz prisutnost fosfora nastaju vrlo teško pristupačni fosfati željeza, dok se u lužnatoj sredini željezo nalazi u obliku teško topivih oksida. Topivi oblici željeza u tlu su Fe^{2+} , Fe^{3+} , $\text{Fe}(\text{OH})^{+2}$ i FeOH^{2+} , a s porastom pH-vrijednosti topivost (raspoloživost) željeza značajno opada. Topivost željeza je ovisna o pH vrijednosti tla (Vukadinović i Vukadinović 2011). Biljke usvajaju željezo kao ione Fe^{2+} , Fe^{3+} ili u obliku helata, koji se mogu razlikovati s obzirom na pH reakciju tla. Usvajanje željeza je povezano s redukcijom, pa kod nedostatka Fe biljke u tlo izlučuju fenole i druge reducirajuće tvari. Kompeticiju usvajanju željeza pokazuju: $\text{Cu} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Zn} > \text{Cr} > \text{Mn}$, a kod viših pH-vrijednosti Ca^{2+} i fosfati. Ishrana s N-NO_3^- smanjuje, a sa N-NH_4^+ povećava usvajanje željeza. Oko 80 % od ukupnog željeza u biljci se nalazi u stromi kloroplasta gdje je vezano na proteine i/ili kao rezerva u obliku fitoferitina, a 9-19 % Fe je vezano u obliku kem-Fe ili Fe-S-proteina u listu. Koncentracija željeza u suhoj tvari biljaka najčešće je unutar granice 50 i 1000 ppm. Pokretljivost željeza u biljkama je osrednja do loša jer je 80-90 % željeza u biljci čvrsto vezano. Željezo se premješta u biljci samo ako je vezano na hidroksikarbonske kiseline, fenole, tiole, polisaharide ili aminokiseline. Premještanje željeza povezano je s metabolizmom i fiziološki aktivnim tvarima, a ometa ga prisutnost $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$. Kod folijarne primjene, željezo se premješta floemom, prema dolje. Najveća koncentracija željeza je u lišću pa su potrebe za njim najveće kod razvoja asimilacijske površine (Vukadinović i Vukadinović 2011). Nedostatak željeza utječe na promjenu omjera P/Fe što korelira s pojavom kloroze, odnosno veće količine fosfata u biljci inaktiviraju funkciju željeza tako da je redukcija Fe^{3+} u Fe^{2+} zaustavljena uz smanjivanje intenziteta sinteze proteina, porast sadržaja slobodnih aminokiselina i pad sadržaja proteina, RNK i ribosoma. Biljke iznose biološkim prinosom $300\text{-}1500 \text{ Fe g ha}^{-1}$ te, iako u tlu ima dosta željeza, često zbog poremećaja na poljoprivrednim površinama u sustavu tlo-biljka-klima-agrotehnika dolazi do pojave Fekloroza. To se najčešće događa kada je $\text{pH} > 7,0$ ili $\text{pH} < 3,5$. Kod visokog pH i istovremeno niskog sadržaja kalija

javlja se tzv. vapnena kloroza. Kloroza se rijetko javlja kao stvarni nedostatak željeza, već je uglavnom uvjetovana njegovom inaktivacijom tj. prelaskom u oblik koji je nepristupačan biljci. Deficit željeza utječe na promjenu omjera P/Fe što se manifestira međužilnom klorozom, najprije mlađih listova, jer veće količine fosfata u biljci inaktiviraju funkciju Fe pa je zaustavljena redukcija Fe^{3+} u Fe^{2+} . Kod mnogih usjeva utvrđene su značajne genetske razlike u toleranciji prema Fe klorozi. Kritična granica nedostatka željeza je kod 50-150 ppm u odnosu na suhu tvar, a tipični manjak očituje se međužilnom klorozom prvo mlađih listova, zatim dolazi do pojave nekroze i opadanja lišća. Korijen biljaka koje nisu adekvatni ishranjene sa željezom je kraći i zadebljao. Suvišak željeza je rijedak, osim u vrlo kiselim i slabo prozračnim tlima, gdje suvišak željeza može toksično djelovati na biljke. Kritična toksična granica za Fe je 400-1000 ppm. Toksično djelovanje željeza ogleda se u inhibiciji vegetacijskog rasta, tamnom, plavozelenom lišću i mrkoj boji korijena (Vukadinović i Vukadinović 2011).

2.3 Cink – Zn

Cink je teški metal ($\rho = 7,133 \text{ g cm}^{-3}$), a u tlu vuče podrijetlo iz primarnih i sekundarnih minerala. Kisele stijene (granit, gnajs) sadrže manje cinka, a alkalne (bazalt) znatno više. Prosječan sadržaj cinka u tlu je 5-20 ppm. Biljke ga usvajaju kao kation Zn^{2+} , ZnCl^+ , $[\text{Zn}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, $\text{Zn}(\text{OH})^+$ i Zn-helate. Usvajanje cinka je aktivan proces na što negativno utječu sljedeći ioni: $\text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+} = \text{Sr}^{2+} = \text{Ba}^{2+}$. Niska temperatura, kao i suvišak fosfora, otežavaju usvajanje cinka. Pristupačnost cinka je veća u kiselim tlima u kojima postoji i opasnost od njegovog ispiranja. Nedostatak cinka javlja se najčešće na teškim, glinovitim tlima, ali i karbonatnim tlima istočne Hrvatske te solonecima (Vukadinović i Vukadinović 2011). S agronomskog stajališta velik broj kultura je izrazito osjetljiv na nedostatak cinka u tlu, a fitotoksičnost se javlja pri relativno visokim razinama oko 400mg/kg (Mengel i Kirkby, 1979). Glavni izvori onečišćenja su iz industrije, a u poljoprivredi korištenje gnojiva, gnojovke, kompostnih materijala te agrokemikalije (Romić i sur, 2007). Sadržaj cinka u biljkama je nizak i ovisno o biljnoj vrsti, koncentracija je obično u granicama od 0,6 do 83 ppm u suhoj tvari. Pokretljivost cinka u biljci je osrednja (bolja od Fe, B i Mo), a smatra se da se u ksilemu nalazi u obliku citrata, helata ili kao slobodan ion. Fiziološka uloga cinka je vrlo opsežna i značajna. Cink utječe na metabolizam mnogih tvari, posebice proteina. Sastavni je dio mnogih enzima gdje kao dvovalentni kation gradi tetrahedralne helate, odnosno povezuje enzim sa supstratom. Sudjeluje u građi enzima karbonhidroze ($\text{OH}^- + \text{CO}_2$

$\leftrightarrow \text{HCO}_3^-$), dehidrogenaze (malat, glutamat itd.), alkohol-dehidrogenaza, superoksid-dismutaza itd., a ujedno je i njihov aktivator (enzimi sa SH grupom, aldolaze, izomeraze, DNA-aza itd.). Značaj cinka je izuzetno velik u biosintezi DNA i RNA (RNA polimeraza), sintezi proteina (preko prometa RNA i utjecaja na strukturu ribosoma), sintezi auksina, odnosno utječe na rast biljaka (preko utjecaja na sintezu triptofana), stabilizaciji biomembrana i dr. Cink također utječe na aktivnost ribuloza - 1,5-fosfat karboksilaze-oksidaze (karboksidismutaze), usvajanje i transport fosfora i aktivnost fosfataza, povećava otpornost prema bolestima, niskim temperaturama i suši (smanjuje transpiraciju), (Vukadinović i Vukadinović 2011). Kritična granica nedostatka cinka je 15-30 ppm u suhoj tvari lišća. Simptom nedostatka cinka uočava se u međužilnoj klorozi lišća, sitnolisnatosti i rozetastoj formi izbojaka koji se odlikuju vrlo kratkim internodijima. Suvišak cinka rijetko se javlja i to samo na kiselim tlima i rudištima (kritična granica suviška je 200-500 ppm u suhoj tvari lišća), a očituje se niskim rastom, sitnim listovima i smanjenim korijenom, lišće poprima tamnocrvene pjege, ali za razliku od suviška Fe i Mn, one su podjednako zastupljene na mlađem i starijem lišću (Vukadinović i Vukadinović 2011).

2.4 Bakar – Cu

Sadržaj bakra u tlu prosječno je 5-50 ppm. Usvaja se kao Cu^{2+} i pripada skupini teških metala ($\rho = 8,960 \text{ g cm}^{-3}$) koji se čvrsto sorbiraju na koloide tla, posebice organske. Bakar u tlu podrijetlom je iz 79 primarnih minerala gdje se nalazi u jednovalentnom obliku, a nakon njihovog raspadanja oksidira se do Cu^{2+} . Bakar u tlu gradi vrlo stabilne kompleksne spojeve s organskim kiselinama, poluraspadnutim ili humificiranim organskim tvarima te je u takvom obliku biljkama slabo raspoloživ. Zbog toga se manjak bakra češće javlja na jako humoznim tlima. Na raspoloživost bakra značajno utječe pH reakcija tla, a pristupačnost mu raste s kiselošću tla (optimalan pH je 4,5-6,0), (Vukadinović i Vukadinović 2011). Geografski i geološki je 26. element po zastupljenosti u zemljinoj kori. Utvrđene srednje vrijednosti bakra u površinskom sloju tla sjeverozapadne Hrvatske iznose 28 mg/kg (Miko i sur., 2001). Vrijednosti bakra na području Medvednice bile su između 3 i 67 mg/kg, ovisno o tipu tla i bioklimatskom području, a najviše koncentracije utvrđene su u bioklimatima šume hrasta kitnjaka i običnog graba (57-67 mg/kg), dok su svi ostali ekosustavi imali koncentracije bakra u tlu ispod 20mg/kg (Martinović, 2003). Biljke usvajaju bakar kao Cu^{2+} i/ili u obliku helata. Proces usvajanja je aktivan i smatra se da postoji specifičan prenositelj. Kod usvajanja, konkurenciju bakru čine Mn, Fe i Zn, a također je zapaženo da dobra opskrbljenost biljaka

dušikom i fosforom često izaziva nedostatak bakra. Premještanje bakra je osrednjega intenziteta u oba pravca i to u obliku Cu-kompleksa, obično s aminokiselinama, pa ga korijen biljaka sadrži u znatnim količinama. Biljke sadrže 2-20 ppm bakra u suhoj tvari, a smatra se da su slabo opskrbljene s bakrom ako je koncentracija $\text{Cu} < 4$ ppm. Fiziološka uloga bakra vrlo je značajna jer je on sastavni dio ili aktivator mnogih enzima koji sudjeluju u oksidacijskim procesima. Bakar utječe na sintezu proteina, stabilizira molekule klorofila i sudjeluje u sintezi antocijana. Bakar ima izražen afinitet prema proteinskoj strukturi pa je 73 % bakra u biljkama vezano na proteine u kloroplastima gdje bakar ima ulogu stabilizatora klorofila. Značajna mu je uloga u metabolizmu dušikovih spojeva jer regulira vezivanje amonijaka na ketokiseline, utječe na sintezu nukleinskih kiselina, metabolizam ugljikohidrata, lignifikaciju staničnih stjenki, formiranje polena i fertilnost biljaka, povećava otpornost na niske temperature i dr. (Vukadinović i Vukadinović 2011). Bakar djeluje u vrlo niskim koncentracijama, ali se često nađe u biljkama u manjoj količini od potrebne. Kritična granica opskrbljenosti bakrom je u vegetativnim organima 1,0-3,5 ppm u odnosu na suhu tvar, ovisno o biljnoj vrsti i biljnom organu. Simptomi nedovoljne ishranjenosti bakrom su kloroza i nekroza lišća, odumiranje vršnih izbojaka, venuće i uvijanje lišća te odumiranje mlađeg lišća. Suvišak bakra vrlo je rijetka pojava ($\text{Cu} > 15\text{-}30$ ppm u suhoj tvari) koja se javlja obično na kiselim tlima. Otrovnost bakra očituje se smanjenim rastom korijena i izbojaka, klorozom starijeg lišća i tamnocrvenom rubnom nekrozom (Vukadinović i Vukadinović 2011). Komunalni mulj, peradarski i svinjski gnoj te gnojovka mogu sadržavati visoke koncentracije bakra, a učestala primjena navedenih materijala može rezultirati pojavom toksičnih koncentracija u tlu. Također, bakar karakteriziraju tzv. točkasti izvori onečišćenja, najčešće odlagališta otpada (Mansceher, 1995).

Gljive su izvor nutrijenata, ali i česti izvor toksičnih metala i metaloida općenito u stanovništvu. Zdravstvene posljedice toksičnih teških metala konzumacijom samoniklih jestivih gljiva ne mogu se temeljito procijeniti, jer su podaci o biodostupnosti u ljudi vrlo ograničeni. Prilikom procjene izloženosti, unosa i rizika za štetne toksične učinke metala i metaloida u ljudi, treba imati na umu da su esencijalnost i toksičnost metala i metaloida usko povezani. Stoga su potrebna stalna praćenja i nadzor razina metala i metaloida u ljudskoj prehrani, jednako u namirnicama biljnog i životinjskog porijekla, ali i u dodacima prehrani čija je dostupnost na tržištu i opća popularnost u stalnom porastu. Potrebne su visoko stručne preporuke nutricionista i toksikologa temeljene na rezultatima znanstvenih istraživanja koje je

redovito ugrađuju u preporuke međunarodnih agencija (EFSA, FAO/WHO, JECFA) te odgovarajuću nacionalnu zakonsku regulativu.

2.5 Morfologija i biologija gljiva

Procjenjuje se da u svijetu postoji više od 100.000 vrsta gljiva (Kirk i sur., 2008), a u navedeno mnoštvo vrsta ubrajaju su i niže gljive, vidljive samo mikroskopskim pomagalicama. Od vrsta koje su svrstane u više gljive, a nalaze se na prirodnim staništima širom svijeta, poznato je 30-40 tisuća vrsta. Oko 250 vrsta je izvrsne kakvoće, drugih 250 otrovnih, a ostala većina je uglavnom nejestiva bilo da su plodna tijela izrazito malih dimenzija, tvrde konzistencije, gorka okusa ili neugodna mirisa. Gljive su dugo vremena smatrane biljkama, što se još i danas ogleda u činjenici da znanstvenici koji proučavaju gljive često rade u botaničkim institutima. Međutim, mnogobrojnim istraživanjima karakteristika i načina života gljiva ustanovljeno je da formiraju zasebnu skupinu organizama koja se u mnogočemu razlikuje, kako od biljaka tako i od životinja.

Temeljni kriterij podjele živih organizama je način na koji osiguravaju hranu potrebnu za život. Prema načinu ishrane živi organizmi mogu živjeti i razmnožavati se kao autotrofi i heterotrofi. U skupini autotrofa nalaze se biljke i zelene alge koje se koriste ugljikovim dioksidom iz zraka i anorganskim spojevima iz tla te uz pomoć klorofila i energije sunčeve svjetlosti stvaraju organske tvari potrebne za život. Gljive kao zasebna skupina organizama nemaju klorofil i bitno se razlikuju od biljaka. S obzirom da nemaju klorofil i ne mogu provoditi proces fotosinteze, gljive pripadaju heterotrofnim organizmima, a potrebne asimilate pribavljaju na račun drugog živog ili mrtvog organizma. Temeljem toga, gljive formiraju specifične odnose s izvorom hrane:

- parazitski odnos – gljiva crpi gotove asimilate iz drugog živog organizma
- saprofitski odnos – gljiva raste na mrtvoj organskoj tvari razgrađujući istu
- simbiotski odnos (mikoriza) – ravnopravni odnos gljive i više biljke u kojem gljiva dobiva ugljikohidrate od biljke, a za uzvrat korijenje više biljke povećava sposobnost asimilacije mineralnih tvari i vode iz tla.

Gljive se u prirodi nalaze u različitim oblicima, bojama i veličinama. Iako je neke vrste prilično lako determinirati, većina ipak zahtjeva više znanja i pažnje. Jedan od načina uspješne determinacije gljiva pažljivo uočavanje morfoloških obilježja karakterističnih za pojedinu vrstu.

Saprofitske vrste gljiva su sveprisutne u okolišu, a posebno su vezane s površinskim slojem tla i raspadajućom biljnom tvari. Imaju iznimno važnu ulogu u prirodnom recikliranju hranjivih tvari te su osobito pogodne za umjetni uzgoj. Tu spadaju gljive poput shii-take (*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.), plemenite pečurke (*Agaricus bisporus* (Lge.) Sing.) te bukovače (*Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer) koje prednjače u uzgoju saprofitskih vrsta gljiva. Saprofitske vrste gljiva (*Agaricus* sp., *Armillariella* sp., *Clitocybe* sp., *Macrolepiota* sp.) koje rastu u prirodi nestaju onoga trenutka kada micelij iscrpi iz hranjive podloge (mrtva organska tvar) sve potrebne hranjive tvari.

Simbiotske vrste gljiva uspostavljaju vezu (mikorizu) s biljkama te na taj način biljke i gljive imaju uzajamnu korist. Iako mikorizne gljive u biti inokuliraju korijen svog domaćina, ta je veza uzajamno korisna jer gljiva opskrbljuje biljku dodatnim hranjivima kao što su fosfor, kalcij, kalij, magnezij, željezo, dušik i voda, a zauzvrat gljiva od biljke dobiva nusprodukte fotosinteze u obliku ugljikohidrata i mjesto za život (Hall, 2007). Navedene tvari, asimilirane hifama gljive ulaze u biljku preko micelija koji je prostorno znatno rašireniji i prodire u dijelove tla koje biljka nije u mogućnosti eksploatirati. S druge strane, micelij je hifama povezan s korijenom biljke što omogućuje nesmetan protok i izmjenu svih potrebnih tvari za normalan razvoj biljke i gljive. Biljka povezivanjem u mikorizu značajno povećava imunitet prema drugim patogenim organizmima i suši, a što se objašnjava povećanjem površine asimilacijskog aparata.

2.5.1 Morfologija i biologija jestivih saprofitskih gljiva

Agaricus campestris (L) Fries – poljska pečurka



Slika 1. Poljska pečurka; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Naziv *campestris* izvod je iz latinske riječi *campus*, što znači teren. Vrsta *Agaricus campestris* pripada rodu *Agaricus* kojih ima u mnogo varijeteta, a uglavnom su izvanredno ukusne gljive. Klobuk joj je bijel, pahuljasto svilenkast, a ponekad i čehav. Polukuglast je u mladosti, a sa starenjem postane konveksan. Naraste u širinu od 5 do 12 cm. Listići su slobodni i gusti, crvenkaste boje, a starenjem postaju tamniji do gotovo crni. Stručak je visok 3-10 cm, uglavnom bijele boje, gladak, pun te prema dnu lagano zadebljan (slika 1). Poljska pečurka posjeduje vjenčić koji se starenjem gubi. Meso je bijelo, a na prerezu dobiva crvenkastu boju. Spore su eliptične, potpuno zrele su smeđe boje, a veličine su 5-9 x 6 µm. *A. campestris* raste od svibanja pa sve do kraja jeseni, skupno ili pojedinačno, uglavnom po livadama, pašnjacima, kukuružištima te se ponekad može naći i uz same rubove šume (Božac, 2003).

***Armillariella mellea* (Vahl. ex Fr.) Karst. – medena puza**



Slika 2. Medena puza; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Vrsta *Armillaria mellea* sistematski pripada u razred *Basidiomycetes*, red *Agaricales*, porodicu *Tricholomataceae* i rod *Armillariella* (Božac, 2003). Plodno tijelo gljive sastoji se od klobuka i stručka. Klobuk je mesnat i žućkast poput meda te je prekriven tamnijim čehama. U mladosti je okruglast, dok sa starenjem postaje potpuno otvoren. Naraste u širinu od 5 do 10 cm. Listići su bijeli, a starenjem postaju crvenkasti, gusti su i prirasli uz stručak. Stručak je visok 5-15 cm i može varirati u širini. Žutosmeđe je boje, a prema dnu postaje crnkast i zadebljan (slika 2). Stručak ima trajan vjenčić bjelkaste boje. Meso je bijelo, neizražena okusa. Spore su eliptične i bijele, veličine 5-10 x 5-6 µm. Medena puza raste busenasto u jesenskim mjesecima u hrastovim, grabovim i crnogoričnim šumama, uglavnom na panjevima, ali može rasti i na živom drvu. Jestiva je vrsta, ali se upotrebljava samo klobuk jer je stručak tvrd i vlaknast (Božac, 2005).

***Clitocybe inversa* (Scop. ex Fr.) Pat. - žuta uleknjača**



Slika 3. Žuta uleknjača; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Žuta uleknjača sistematski pripada u skupinu gljiva iz porodice *Triholomataceae*. Klobuk je slabo mesnat, žutocrvene boje, jako je ulegnut poput lijevka, a širine je od 5 do 10 cm. Vremenske prilike mogu značajno utjecati na boju klobuka. Površina klobuka može biti prekrivena sitnim čehicama. Listići su gusti i spuštaju se dugo niz stručak. Smeđe-crvene su boje te se lako odvajaju od klobuka. Stručak je visine od 3–7 cm, crvenkasto-bijele boje i prema dnu je zadebljan (slika 3). Meso je bijelo, ali dosta tvrdo i žilavo, slatkastog okusa. Spore su bijele, okruglasto eliptičnog oblika, veličine 3-5 x 2,5-4 µm. Raste u jesen, formirajući krugove ili polukrugove u listopadnim i crnogoričnim šumama (Božac, 2005).

***Clitocybe nebularis* Batsch. ex Fr. – siva maglenka**



Slika 4. Maglenka; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Maglenka pripada skupini saprofitskih vrsta gljiva koja je široko rasprostranjena po šumama Hrvatske. Klobuk je širok 6-20 cm (2-8 cm) u promjeru, mesnat i konveksan, uvijena ruba. Boja klobuka je sivkasta do svijetlo-smeđe siva (slika 4), a često je posut svijetlim prahom, dok se kožica klobuka lako guli. Listići su vrlo gusti i spuštaju se niz stručak. Žućkaste su boje te se lako odvajaju od mesa klobuka. Stručak je debeo, prema dnu je zadebljan, a sa starenjem postaje šupalj te se lako lomi. Boja stručka je svjetlija od boje klobuka. Meso je bijelo i vlaknasto, jakog mirisa koji podsjeća na upaljeno brašno (Božac, 2003), dok je okus trpak. Spore su žute i ovalne, veličine 6-8 x 3-4 μm . Raste u kasnu jesen u crnogoričnim i bjelogoričnim šumama u velikim skupinama, krugovima ili redovima, kao i modrikača (*Lepista nuda* Pers.) (Božac, 2005).

***Macrolepiota procera* (Scop. ex Fr.) Sing. – sunčanica**



Slika 5. Sunčanica; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Sunčanica (*Macrolepiota procera*) pripada skupini gljiva iz razreda *Basidiomycetes*. Specifičnog je plodnog tijela nalik suncobranu. Klobuk je širok 10-30cm, u mladosti okrugao, dok s razvojem gljive postaje otvoren. Sivosmeđe je boje s vidljivim ispupčenjem na sredini te je prekriven s ljuskama (slika 5). Listići su gusti, bijeli i mekani, a drže se za ovratnik (*collarium*) tako da su od stručka odmaknuti oko 1,5 mm. Stručak je visok od 20 do 40 cm, cilindričan, vlaknast i šupalj, a na dnu je gomoljasto zadebljan. Smeđe je boje s pomičnim vjenčićem. Meso klobuka je bijelo i mekano, dok je stručak tvrd i žilav. Miris je ugodan, a okus dobar i podsjeća na lješnjak. Spore su bijele i eliptične, veličine 10-20 x 9-14 μm . Raste pojedinačno ili u skupinama u ljetnim i jesenskim mjesecima u svim šumama. Izvrsne je kakvoće, međutim upotrebljavati treba samo klobuk jer je stručak žilav i tvrd (Božac, 2005).

2.5.2 Morfologija i biologija jestivih simbiotskih gljiva

Boletus aestivalis Paulet ex Fries - raspucani vrganj



Slika 6. Ljetni vrganj; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Vrstu *Boletus aestivalis* sinonim *Boletus reticulatus* pripada skupini ektomikoriznih gljiva. Klobuk je širok od 8-30 cm, vrlo promjenjive boje, uglavnom smeđast ili boje lješnjaka (slika 6). Klobuk je jako mesnat te po suhom vremenu ispucan. Cjevčice su u mladosti bijele, dok sa starenjem postaju žute do maslinastozelene. Prirasle su uz stručak, a s razvojem plodnog tijela lako se odvajaju od mesa klobuka. Stručak je visok 5-20 cm, u mladosti je trbušast, a s razvojem plodnog tijela postaje valjkast. Površina mu je mrežasta, svijetlosmeđe boje, a osnova stručka je bjelkasta. Meso je bijelo, mekano, ugodna mirisa i okusa. Spore su eliptično vretenaste, veličine 13-17 x 4-5 μm , a otrusina je maslinastosmeđa. Raste u listopadnim šumama u ektomikoriznoj zajednici s hrastom (*Quercus sp.*), bukvom (*Fagus sp.*), grabom (*Carpinus sp.*) i kestenom (*Castanea sp.*). Ubraja se među najkvalitetnije vrste gljiva iz roda *Boletus* (Božac, 2008).

***Boletus edulis* Bull. ex Fries - crnogorični vrganj**



Slika 7. Crnogorični vrganj; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Crnogorični vrganj (*Boletus edulis*) je vrsta koja taksonomski pripada razredu *Basidiomycetes*, porodici *Boletaceae* te rodu *Boletus*. Široko je rasprostranjen u zemljama Europe. Klobuk je mesnat, smeđe boje, što najviše ovisi o staništu (slika 7). Naraste 5-30 cm široko, a u mladosti je polukuglast, zatim sa starenjem postaje potpuno raširen. Cjevčice su žuto-zelene i lako se odvajaju od plodnice klobuka. Stručak je 5-15 cm visok i 2-7 cm deo, a prema dnu je često zadebljan. Smeđaste je boje, a ponekad ima vidljivu blijedu mrežicu. Spore su maslinasto smeđe, veličine; 12-16 x 4-5 μm (Božac, 2008). *B. edulis* je ektomikorizna gljiva koja raste u ljeti i u jesen po crnogoričnim šumama u simbiozi sa smrekom (*Picea sp.*) i jelom (*Abies sp.*), na nadmorskoj visini do 3500 m. Vrganji se pojavljuju u mnogo varijeteta te dolazi do zabuna prilikom sakupljanja gljiva, međutim, sve su varijacije izvršne kakvoće pa nema bojazni od trovanja (Božac, 2008).

***Lactarius deterimus* Groger - smrekina rujnica**



Slika 8. Smrekina rujnica; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Smrekina rujnica (*Lactarius deterimus*) je vrsta koja pripada gljivama iz porodice *Russulaceae*. Klobuk je u najranijoj mladosti konveksno udubljen, a starenjem rub klobuka postaje uzdignut. Narančaste je boje sa zelenkastim pjegama, a po vlažnom vremenu je jako mazav (slika 8). Naraste od 3 do 10 cm široko. Listići su gusti i lagano se spuštaju niz stručak, boje klobuka. Stručak valjkast i šupalj, a naraste od 3 do 7 cm visoko i 0,5 – 2,5 cm debelo. Meso je blijedo žućkasto, a ispod kože klobuka narančasto-crvenkasto. Spore su okruglasto eliptične, veličine 7,5-10 x 6-7,5 µm. Smrekina rujnica raste u jesen, isključivo u simbiozi (ektomikoriza) sa smrekom (*Picea excelsa*) (Božac, 2008). Izvrsne je kakvoće, a prilikom determinacije potrebno je obratiti pažnju na narančasto mlijeko koje ispušta na presjeku te je isključena svaka mogućnost zamjene s nejestivim gljivama (Božac, 2008).

***Tricholoma portentosum* (Fr.) Quelet – najbolja vitezovka (sivka)**



Slika 9. najbolja vitezovka; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Gljiva *Tricholoma portentosum* jedna je od najkvalitetnijih gljiva iz roda *Tricholoma*. Velika je i impozantna gljiva s klobukom širine 5 – 15 cm. Klobuk je u mladosti polukrušan ili zvonolik, zatim s razvojem postane ispupčen. Često je radijalno ispucan s tamno sivim radijalno postavljenim vlakancima (slika 9). Kožica klobuka se lako guli, a rub je izvnut, tanak i valovit. Listići su srednje gusti, odmaknuti od stručka, žućkaste boje. Stručak je cilindričan i zadebljan na dnu. S razvojem plodnog tijela stručak postane šupalj i bjelkastožute boje. Spore su eliptične i bijele, veličine 7-8 x 2-4 μm (Božac, 2008). Ektomikorizna je vrsta koja raste u simbiozi s borom (*Pinus sylvestris*), ali također se može naći i u simbiozi s hrastom (*Quercus sp.*) ili bukvom (*Fagus sp.*). Pri determinaciji vrste treba obratiti pozornost da se ne zamijeni s vrstom *Tricholoma virgatum* (Fr. ex Fr), koja nije jestiva (Božac, 2005).

***Tricholoma terreum* (Schff. ex Fr.) Kummer – mišja vitezovka (mišek)**



Slika 10. mišja vitezovka; izvor: www.fungi.fvlmedia.dk

Tricholoma terreum, u Hrvatskoj je poznatija pod nazivom mišek. Plodno tijelo mišje vitezovke građeno je od klobuka i stručka. Klobuk je širok od 4 do 6 cm, u mladosti je konveksan, a s razvojem plodnog tijela klobuk postane otvoren (slika 10). Prekriven je sa svilenkastim vlakancima sivocrne boje te je često radijalno ispucan. Listići su široki i lomljivi, prirasli su uz stručak, sive boje. Stručak je mekan i šupalj, u prosjeku je visok 3-6 cm, a boje mu je sivkasto bijela. Spore su eliptične, veličine 5-8 x 4-6 μm . Mišja vitezovka raste u kasnu jesen u simbiozi sa četinjačama, osobito ispod bora (*Pinus sp.*) i smreke (*Picea sp.*). Uglavnom raste u skupinama te se može pronaći u parkovima ispod navedenih simbiotskih vrsta, a u Republici Hrvatskoj raste na svim područjima gdje ima borove i smrekove šume (Božac, 2005).

3. Materijali i metode istraživanja

Predmetno istraživanje je provedeno na području Parka Prirode Medvednica u sjeverno-zapadnom dijelu zagrebačke županije (slika 11). Područje istraživanja je prekriveno sa dobro očuvanom prirodno opadajućom i mješovitom šumom hrasta, bukve, običnog graba, pitomog kestena, smreke, javora i poljskog jasena. Makrofungalni uzorci su prikupljeni tijekom jeseni 2012. (od rujna do prosinca). Razine teških metala (željeza, cinka i bakra) su analizirane u 10 vrsta jestivih gljiva (20 uzoraka po vrsti). Prikupljene vrste gljiva činila su četiri kopnena saprofita (*Agaricus campestris* (L) Fries, *Clitocybe inversa* (Scop. Ex Fr.), *Clitocybe nebularis* Batsch. Ex Fr. i *Marcolepiota procera* (Scop. Ex.Fr) Sing), jedna lignocelulozna gljiva – *Armillaria mellea* (Vahl. Ex Fries) Karst), i pet ektomikorizalnih vrsta (*Boletus aestivalis* Paulet ex Fries, *Boletus edulis* Bull. ex Fries, *Lactarius deterrimus* Groger, *Tricholoma portentosum* (Fr.) Quelet, *Tricholoma terreum* (Schff. ex Fr.) Kummer). Potpuno razvijena i zrela plodna tijela gljiva prikupljena su slučajnim odabirom. U isto vrijeme, uzorci gornjeg sloja šumskog tla (0-10 cm) su prikupljeni na mjestima uzorkovanja gljiva. Determinacija gljiva obavljena je prema uobičajenim ključevima i ikonografijama prema Bošcu (2005), i Bošcu (2008). Svi uzorci su analizirani u tri ponavljanja.



Slika 11. Područje prikupljanja uzoraka Park prirode Medvednica

3.1 Analiza teških metala

Prikupljeni uzorci gljiva i uzorci tla su dokumentirani, osušeni u pećnici (24h na 103°C), mljeveni sa laboratorijskim Retch SM2000 te prešani u brikete veličine (r=16mm; d=5mm) na Chemplex press uređaju. Analiza željeza, cinka i bakra u gljivama i supstratu tla provedena metodom rentgenske fluorescentne spektrometrije na uređaju XRF spektrometar (twinx Oxford Instruments). U prvom koraku provedena je kvalitativna analiza. Identificirani su najčešći zagađivači, za koje su bile pripremljene kalibracijske krivulje. Kvantitativna analiza je provedena u drugom koraku. Koncentracija analiziranih metala određene su pomoću PIN detektora, a dobiveni podaci su izraženi u ppm odnosno mg kg^{-1} suhe tvari. Vrijednosti biokoncentracijskih faktora su izračunate kao omjer postotka između teških metala u gljivama i koncentracije u rastućem supstratu.

3.2 pH vrijednost i organska tvar

PH vrijednost uzorka supstrata tla određena je potenciometrijski u suspenziji tla i destilirane vode u omjeru 1:5. Mjerenje je izvršeno prema metodi preuzetoj iz „Metode analize tla“ (Thomas, 1996). Vrijednost pH je određena koristeći pH metar IQ 150 (IQ Scientific Instruments, SAD).

Sadržaj organske tvari u uzorku supstrata tla određen je gravimetrijski nakon spaljivanja organske tvari (2 g supstrata osušenog na zraku) na 550 °C kroz 16 h u peći (Select – Horn. SELECTA).

4.Rezultati

4.1 Teški metali u supstratu tla

Svojstva tla (pH vrijednost i postotak organske tvari) i prosječne koncentracije željeza, cinka i bakra na području Medvednice prikazani su u tablici 1. Srednja vrijednost pH supstrata na Medvednici je bila 7,22 gdje su minimalne vrijednosti iznosile 6.30, a maksimalne 8,12. Postotak organske tvari je varirao od 2.16% do 12.65% sa srednjom vrijednošću od 6.48%. Analizom teških metala u tlu ustanovljena je najveća koncentracija željeza od 7953 mg kg⁻¹, zatim cinka 79,07 mg kg⁻¹ te bakra od 22,91 mg kg⁻¹. Također, najveća varijabilnost (CV = 46,73 %) utvrđena je za metal željezo (tablica 1).

Tablica 1. pH vrijednost, organska tvar % i koncentracija teških metala u tlu istraživanog područja (mg kg⁻¹)

	Mean	S.D	Min.	Max.	C.V.%
pH H ₂ O	7,22	0,59	6,30	8,12	0,33
O.M.%	6,48	3,62	2,16	12,65	12,48
Fe	7 953,00	221,79	7 569,00	8 332,00	46,73
Zn	79,07	13,78	42,50	94,30	37,49
Cu	22,91	4,42	13,20	28,30	18,54

4.2 Koncentracija metala i biokoncentracijski faktor u gljivama

Opisna statistika koncentracije teških metala i biokoncentracijskih faktora su prikazane u tablici 2. Općenito, koncentracija željeza je varirala između ispitivanih vrsta. Vrijednosti su bile između 153.96 kod *T. portentosum* (vitezovka) i 49.25 mg kg⁻¹ kod *L. deterrimus* (smrekina rujnica) ektomikorizne vrste koje žive u simbiozi isključivo sa smrekama. Utvrđeni prosjek koncentracije željeza u vitezovki je bio znatno viši nego u drugih ispitivanih vrsta.

Vrijednosti biokoncentracijskog faktora za željezo su bile daleko ispod 1 u svim ispitivanim vrstama gljiva (tablica 2). Prosječna vrijednost koncentracije cinka u istraživanim vrstama jestivih gljiva iznosila je 76.34 mg kg⁻¹. Najviša koncentracija cinka od 95.65 mg kg⁻¹ utvrđena je u vrsti *T. terreum*, dok je najniža koncentracija utvrđena u medene puze koja živi na drvetu bez doticaja sa česticama minerala u tlu. Većina analiziranih vrsta je pokazala vrijednost biokoncentracijskog faktora >1, dok su vrste *A. mellea*, *C. inversa* i *C. nebularis* okarakterizirane kao slabi bioakumulatori cinka sa vrijednosti biokoncentracijskog faktora manjom od 1. Najbolji bioakumulatorski potencijal je utvrđen u poljskoj pečurki (1.15). Najviša srednja vrijednost bakra od 78.18 mg kg⁻¹ je utvrđena u velikoj sunčanici, dok je najniža koncentracija ustanovljena u smrekinoj rujnici (7.41 mg kg⁻¹). Nadalje, iz tablice 2 razvidno je kako su sve ektomikorizne te većina saprofitskih vrsta slabi sakupljači cinka (BCF<1). Nasuprot navedenom, dobra bioakumulatorska svojstva su utvrđena u velike sunčanice i poljske pečurke (3.41 i 1.66).

Tablica 2. Koncentracije željeza, cinka, bakra (mg kg⁻¹) i biokoncentracijski faktor u ispitivanim vrstama gljiva

Species	Fe			Zn			Cu		
	Mean	S.D.	BCF	Mean	S.D.	BCF	Mean	S.D.	BCF
<i>A. campestris</i>	127,94	38,66	0,02	89,53	13,70	1,13	38,09	14,71	1,66
<i>A. mellea</i>	62,08	26,64	0,01	41,99	21,66	0,53	19,39	7,91	0,85
<i>B. aestivalis</i>	84,99	19,48	0,01	81,04	15,61	1,02	19,19	6,47	0,84
<i>B. edulis</i>	69,39	26,01	0,01	82,93	13,70	1,05	22,56	7,26	0,98
<i>C. inversa</i>	54,33	17,88	0,01	62,96	16,31	0,80	19,65	4,83	0,86
<i>C. nebularis</i>	67,73	19,49	0,01	63,48	18,36	0,82	28,48	7,78	1,24
<i>L. detterimus</i>	49,25	14,44	0,01	86,12	13,95	1,09	7,41	2,96	0,32
<i>M. procera</i>	105,99	40,56	0,01	84,55	12,49	1,07	78,18	19,03	3,41
<i>T. portentosum</i>	153,96	35,94	0,02	80,23	16,70	1,01	11,82	5,57	0,52
<i>T. terreum</i>	83,53	30,83	0,01	90,56	18,08	1,15	15,41	5,27	0,67

Mean – srednja vrijednost; S.D. – standardna devijacija; BCF – biokoncentracijski faktor

4.3 Morfološki dijelovi

Raspodjela željeza, cinka i bakra među anatomskim dijelovima plodnog tijela ispitanih gljiva prikazana je u tablici 3. Iz navedene tablice razvidna je značajna razlika u koncentraciji teških metala između anatomski dijelova plodnog tijela gljiva. Pritom, bitno je naglasiti kako je značajno veća koncentracija željeza, cinka i bakra ustanovljena u klobuku u odnosu na stručak u svim analiziranim vrstama gljiva. Dvostruko veća koncentracija željeza utvrđena je klobuku u odnosu na stručak vrste *Boletus edulis*. Također, dvostruko veća koncentracija bakra ustanovljena je i u klobuku vrste *Tricholoma portentosum*, dok je čak trostruko veća koncentracija cinka utvrđena u klobuku vrste *Armillaria mellea* u odnosu na stručak (tablica 3).

Tablica 3. Koncentracija teških metala u anatomskim dijelovima plodnog tijela gljiva

Species	Fe			Zn			Cu		
	Klobuk	Stručak	R.Z.	Klobuk	Stručak	R.Z.	Klobuk	Stručak	R.Z.
<i>A. campestris</i>	152,95	102,94	***	100,54	78,52	***	48,79	27,38	**
<i>A. mellea</i>	79,66	44,50	**	62,24	21,74	***	24,77	14,01	**
<i>B. aestivalis</i>	101,43	68,55	***	93,84	68,24	**	23,49	14,90	**
<i>B. edulis</i>	93,07	45,72	***	92,72	73,14	**	28,35	16,76	***
<i>C. inversa</i>	68,86	39,79	***	77,62	48,31	***	22,29	17,01	*
<i>C. nebularis</i>	82,57	52,89	**	79,94	47,01	***	35,22	21,73	***
<i>L. detterimus</i>	57,10	41,42	*	94,62	77,63	***	9,29	5,54	**
<i>M. procera</i>	138,89	73,09	***	94,47	74,64	**	94,81	61,55	***
<i>T. portentosum</i>	182,57	125,36	***	94,03	66,43	**	16,13	7,51	***
<i>T. terreum</i>	103,86	63,21	***	105,82	75,29	**	19,21	11,62	**

R.Z. – razina značajnosti; *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

4.4. Usporedba koncentracije teških metala između saprofitskih i ektomikoriznih vrsta gljiva

Koncentracije istraživanih teških metala s obzirom na načine života gljiva prikazani su u tablici 4. Iz navedene tablice razvidno je kako se koncentracija cinka i bakra značajno ($p < 0,001$) razlikovala između saprofitskih i ektomikoriznih gljiva, dok se sadržaj željeza nije

značajno razlikovao s obzirom na način ishrane gljiva. Viši postotak ili količina teškog metala kod saprofitskih gljiva je utvrđen za bakar ($p < 0,001$) u odnosu na ektomikorizne vrste. Zapravo su više koncentracije cinka primijećene kod ektomikoriznih vrsta nego kod onih saprofitskih ($p < 0,001$) u odnosu na ektomikorizne vrste. Zapravo su više koncentracije cinka primijećene kod ektomikoriznih vrsta nego kod saprofitskih ($p < 0,001$). Dok tu nije bilo značajnih razlika u koncentraciji željeza između ektomikoriznih i saprofitskih vrsta gljiva (tablica 4).

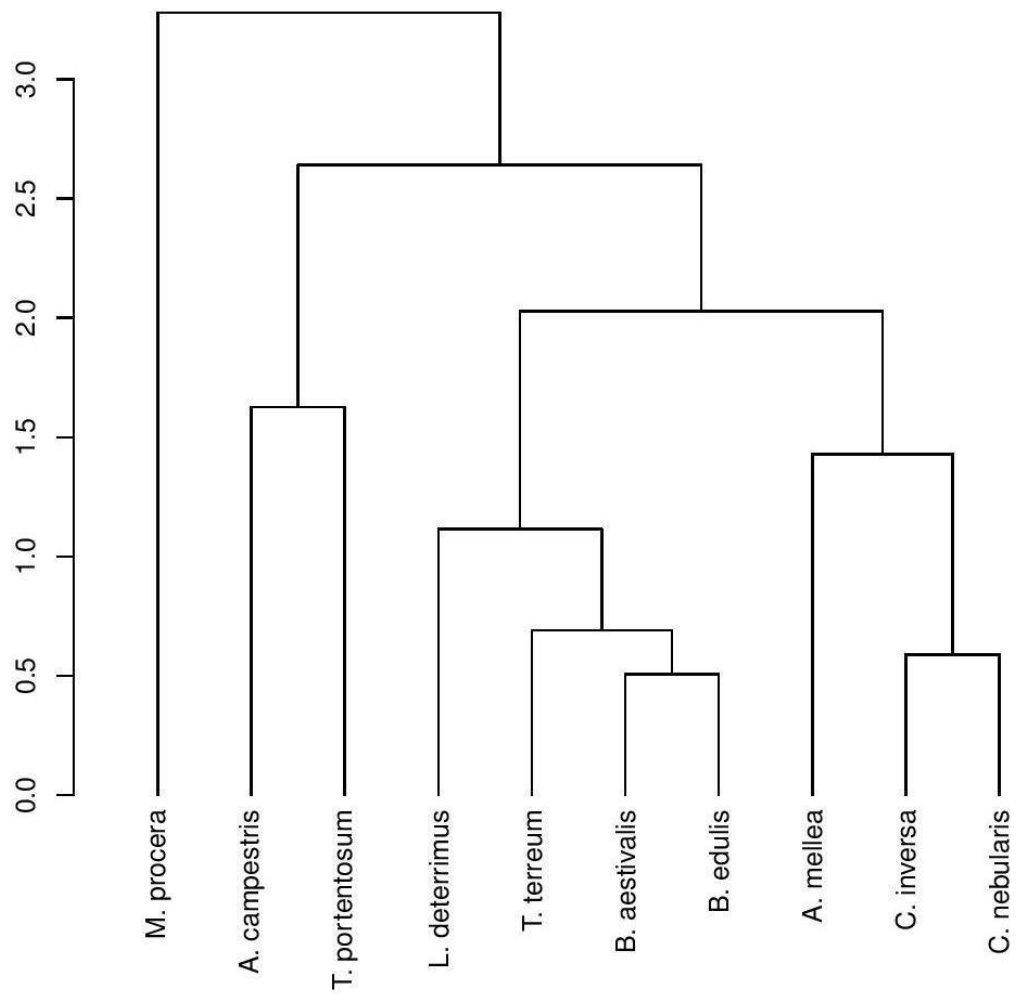
Tablica 4. Koncentracija željeza, cinka i bakra (mg kg^{-1}) u gljivama različitog ekološkog tipa

	Fe	Zn	Cu
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
Saprofiti	83,62 $\pm$ 41,27	68,50 $\pm$ 23,89	36,75 $\pm$ 24,91
Ektomikorizne	88,23 $\pm$ 44,04	84,17 $\pm$ 15,09	15,28 $\pm$ 7,77
t-statistic	-1,08	-7,71	11,63
p- value	0,28	0,00	0,00

Mean – Srednja vrijednost; S.D. standardna devijacija

4.5 Klaster analiza

Grafikon 1. prikazuje dendrogram hijerarhijske klaster analize. Iz navedenog grafikona je razvidno kako klaster analiza temeljena na akumulaciji teških metala utvrdila sličnost između vrsta koje pripadaju istom rodu (*Clitocybe* i *Boletus*), ali i vrstama s obzirom na način ishrane. Uz dodatak ovim sličnostima između rodova gljiva te načina ishrane, velika sličnost temeljena na akumulaciji teških metala utvrđena je između vrsta *Agaricus campestris* i *Tricholoma portentosum*. Međutim, iz grafikona 1 vidljivo je kako su prethodno navedene vrste odnosno rodovi gljiva, znatno različiti u odnosu na vrstu *Macrolepiota procera*, koja se izdvojila u zaseban klaster.



Grafikon 1. Dendrogram klaster analize na ispitivanim vrstama gljiva u odnosu na njihov sadržaj teških metala.

5. Rasprava

Rezultati vezani za željezo u ovom istraživanju su u skladu s većinom objavljenih rezultata. Najviša prosječna koncentracije željeza je pronađena u ektomikoriznoj vrsti *T. portentosum*, a sukladna je s rezultatima istraživanja Isidlaka (2007). Međutim, ektomikorizna vrsta *L. deterrimus* akumulirala je najnižu vrijednost željeza. Navedeno potvrđuju rezultati istraživanja Rudawske i Leskog (2005 a, b). Iznimno visoke koncentracije željeza (1304-2075 mg kg⁻¹) navode Borovička i Randa (2007) u vrsti *Suillus variegatus*. Vrste gljiva iz roda *Suillus* su poznate kao iznimno dobri sakupljači željeza, a što potvrđuju rezultati brojnih istraživanja (Varliulis i sur., 1995; Falandysz i sur., 2001, Kalač, 2010) Nadalje, raspodjela željeza nije bila ravnomjerna u plodnom tijelu gljiva. Pri tom je značajno veća koncentracija utvrđena u klobuku u odnosu na stručak, što je u suglasju s rezultatima istraživanja Kalač (2010); Falandysz i sur. (2011); Kojta i sur. (2011); Jarzynska i Falandysz, (2012). Koncentracija željeza u gljivama općenito je niža nego u tlu. (tablica 1). Sukladno tome, biokoncentracijski faktor u svih istraživanih vrsta gljiva bio je znatno niži <1, te su istraživane vrste gljiva okarakterizirane kao slabi biološki akumulatori za željezo. Rezultati predmetnog istraživanja u velikom su suglasju s rezultatima Malinowske, (2004).

Vrijednosti cinka ustanovljene u predmetnom istraživanju bile su u granicama prethodno utvrđenih. Najniža koncentracija cinka utvrđena je u vrsti *A. mellea*, a može se objasniti načinom života navedene gljiva, koje žive na drveću bez doticaja sa česticama minerala u tlu. Slične rezultate navodi Camposa (2011) koji je najniži sadržaj cinka utvrdio također u medenoj puzi (*A. mellea*). Najviša srednja vrijednost cinka ustanovljena je u ektomikoriznoj vrsti u *T. portentosum*. Objasnjenje mogućih razloga veće akumulacije cinka u ektomikoriznim gljivama prikazuju Adriansen i sur. (2004) koji navode da cink prilagođen ektomikoriznim gljivama može poslužiti kao biološka barijera prema akumulaciji metala u simbiotskom drveću te se time povećava koncentracija cinka u plodištima gljiva. Također, niža nakupina cinka u saprofitskih vrsta gljiva može biti uzrokovana zbog antagonizma između cinka i fosfora te kalcija, mangana, željeza i bakra. Nadalje, znatno veća koncentracija cinka ustanovljena je u klobuku u odnosu na stručak za sve analizirane vrste gljiva, što je u suglasju s rezultatima istraživanja Rudawske i Leskog (2005 a,b) i Alonso i sur. (2003). Razlog navedenom može biti veća biološka aktivnost koju imaju spore na himeniju u odnosu na ostatak plodnog tijela gljiva. Borovička i Randa (2007) navode da su koncentracije cinka u gljivama slične onima u tlu ili čak nešto više, što potvrđuju rezultati predmetnog istraživanja. Sukladno tome izračunate prosječne vrijednosti bile su uglavnom veće od 1 (tablica 2), iako

su se razlikovale ovisno o vrsti gljive. Međutim, Alonso i sur. (2003) i Rudawska i Leski (2005a) prikazuju znatno veće vrijednosti biokoncentracijskog faktora u odnosu na rezultate predmetnog istraživanja, a razlog navedenom mogu biti znatno niže koncentracije cinka ustanovljene u površinskom sloju tla.

Koncentracija bakra značajno ($p < 0,001$) se razlikovala između gljiva s obzirom na način ishrane. Slične rezultate navode Alonso i sur. (2003) koji su utvrdili značajno ($p < 0,001$) veću koncentraciju bakra u saprofitskim u usporedbi sa ektomikoriznim vrstama gljiva. Prema navodima Kalača (2010) koncentracije bakra u većini istraživanih gljiva s nezagađenih područja nalaze se u rasponu između 20 i 100 mg kg⁻¹. Međutim postoji nekoliko saprofitskih vrsta gljiva (*Agaricus macrosporus*, *Agaricus silvicola*, *Macrolepiota procera*) koje akumuliraju bakar u koncentracijama većim od 100 mg kg⁻¹ (Alonso i sur., 2003., Svoboda i Chrastny, 2008). Sukladno navedenom, najveća prosječna koncentracija bakra u provedenom istraživanju ustanovljena je u vrsti *M. procera*, dok su najniže prosječne vrijednosti bakra utvrđene u vrsti *L. deterrimus* (tablica 2). Utvrđena najmanja koncentracija u vrsti *L. deterrimus* može se pripisati njenom načinu života, ali i nakupljanju bakra na površini tla te manja pokretljivost u dubljim slojevima (Aloupi i sur., 2012). Koncentracija bakra kao i drugih istraživanih elemenata nije ravnomjerno raspoređena unutar plodnog tijela gljiva (Kalač, 2010). U skladu s navedenim, predmetnim istraživanjem je utvrđena značajno veća ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) koncentracija bakra u klobuku u odnosu na stručak u svim analiziranim vrstama gljiva (tablica 3). Navedeno potvrđuju rezultati istraživanja Kojte i sur. (2011) te Jarzynske i Falandysza (2012). Kao razlog prikazanom, autori navode veću biološku aktivnost proteina sadržanih u sporama himenija u odnosu na ostatak plodnog tijela gljiva. Vrijednosti biokoncentracijskog faktora uglavnom su bile niže od 1, izuzev saprofitske vrste *A. campestris*, *C. nebularis* i *M. procera* koje su imale vrijednosti biokoncentracijskog faktora veće od 1.

Grupiranje vrsta temeljem koncentracija teških metala u njihovom plodnom tijelu (hijerarhijska klaster analiza) utvrđeno je da vrste istog genusa imaju sličnu mogućnost akumuliranja istraživanih metala. Slične nutritivne navike vrsta koje pripadaju istom rodu su vjerojatno bile razlog za takvo konzistentno skupljanje vrsta na osnovnoj razini. Utvrđena klaster analiza je uglavnom bila u skladu s našim očekivanjima, imajući na umu da vrste istog roda dijele neke zajedničke fiziološke karakteristike. Grupiranje vrsta u zasebnim klasterima na slijedećoj razini također je bilo sukladno našim očekivanjima, budući da je većina ispitanih vrsta bila razdvojena u klastere u skladu sa njihovim načinom života (ektomikorizne i

saprofitske vrste). Međutim, klaster analiza je pokazala da vrste različitog roda, ali i načina ishrane (grafikon 1) akumuliraju podjednake koncentracije istraživanih metala te sukladno tome može se smatrati djelomično neočekivanim ishodom.

6. Zaključci

Utvrđena je koncentracija cinka, željeza i bakra na 10 vrsta gljiva prikupljenih iz parka prirode Medvednica, Hrvatska. Na koncentracije teških metala u gljivama većinom utječu vrste i njihovi načini života. Sve su gljive slabi bioakumulatori željeza, dok su s druge strane utvrđena bioakumulacijska svojstva kod nekih ispitivanih vrsta gljiva vezano za cink i bakar. Prosječne koncentracije ispitanih metala između anatomske dijelova plodišta (klobuk i stručak) su znatno različite. Utvrđene vrijednosti ispitanih elemenata u gljiva se podudaraju s razinama u nezagađenim područjima. Temeljem koncentraciji istraživanih metala, utvrđenoj u supstratima tla, može se zaključiti da okoliš istraživanog područja nije zagađen analiziranim elementima. Razine teških metala divljih jestivih gljiva i područje na kojem one rastu trebalo bi se češće analizirati, da bi se procijenila potencijalna opasnost po ljudsko zdravlje.

7. Popis Literature

1. Adriaensen K. van der Lelie D., van Laere A., Vangronsveld J., Colpaert J. V. (2004). A zinc-adopted fungus protect pines from zinc stress. *New Phytologist* 161: 549-555.
2. Alonso J., Garcia M. A., Perez-Lopez M., Melgar M. J. (2003). The concentrations and bioconcentration factors of copper and zinc in edible mushrooms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 44: 180-188.
3. Aloupi M., Koutrotsios G., Koulousaris M., Kalogeropoulos N. (2012). Trace metal contents in wild edible mushrooms growing on serpentine and volcanic soils on the island Levos, Greece. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 78: 184-194.
4. Andrews S.C. (1998). Iron storage in bacteria. *Advances in Microbial Physiology* 40: 281-351.
5. Borovička J., Randa Z. (2007). Distribution of iron, cobalt, zinc and selenium in macrofungi. *Mycological Progress* 6: 249-259.
6. Božac R. (2003). Gljive morfologija, sistematika, toksikologija. Školska knjiga, Zagreb.
7. Božac R. (2005). Enciklopedija gljiva 1. Školska knjiga Zagreb.
8. Božac R. (2008). Enciklopedija gljiva 2. Školska knjiga Zagreb.
9. Campos J. A., Tejera N.A., (2011). Elements bioaccumulation in sporocarps of fungi collected from quartzite acidic soils. *Biological Trace Element Research* 143: 540-554.
10. Campos J.A. (2011). Nutrients and trace elements content of wood decay fungi isolated from oak (*Quercus ilex*). *Biological Trace Element Research* 144: 1370-1380.
11. Falandysz J., Frankowska A., Jarzyńska G., Dryzalowska M., Kojta K. A., Zhang D. (2011). Survey on composition and bioconcentration potential of 12 metallic elements in King Bolete (*Boletus edulis*) mushrooms that emerged at 11 spatially distant sites. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 46: 231-246.
12. Falandysz J., Gućia M., Mazur A. (2007). Content and bioconcentration factors of mercury by Parasol Mushrooms *Macrolepiota procera*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 42: 735-740.

13. Falandysz J., Szymczyk K., Ichihashi H., Bielawski L., Gucia M., Frankowska A., Yamasaki S.I. (2001). ICP/MS and ICP/AES elemental analysis (38 elements) of edible wild mushrooms growing in Poland. *Food Additives and Contaminants* 18: 503–513.
14. Gadd G. M. (1993). Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytologist* 124:25-60
15. Garcia M.A., Alonso J., Melgar M.J. (2009). Lead in edible mushrooms. Levels and bioaccumulation factors. *Journal of Hazardous Materials* 167: 777-783., Amsterdam
16. Gilmour C., Riedel G. (2009). Biogeochemistry of trace metals and metalloids. In *Encyclopedia of Inland Waters*, pp 7-15. Edited by G.E. Likens. Amsterdam: Elsevier.
17. Hall I.R., Brown G.T., Zambonelli A. (2007). *Taming the truffle*. Timber Press, Portland.
18. He Z.L., Yang X.E., Stoffella P.J. (2005). Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 19: 125–140.
19. Huang P.M., Wang M.C., Wang M.K (2004). Mineral-organic-microbial interactions. In *Encyclopedia Soils in the Environment*, pp. 486-499.
20. Isildak O., Turkekul I., Elmastas M., Aboul-Enein, H.Y. (2007). Bioaccumulation of heavy metals in some wild-grown edible mushrooms. *Analytical Letters* 40: 1099-1116.
21. Isildak O., Turkekul I., Elmastas M., Tuzen. (2004). Analysis of heavy metal in some wild-grown edible mushrooms from the Middle Black Sea region. *Food Chemistry* 86:547-552.
22. Jarzinska G., Falandysz J. (2012). Metallic elements profile of Hazel (Hard) Bolete (*Leccinum grisem*) mushroom and associated upper soil horizon. *African Journal of Biotechnology* 11: 4588-4594.
23. Kalač P. (2010). Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: review for the period 2000-2009. *Food Chemistry* 122: 2-15.

24. Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A. (2008). Dictionary of the Fungi. Csiro Publishing United Kingdom.
25. Kojta A.K., Gucia M., Jarzynska G., Lewandowska M., Zakrzewska A., Falandysz J., Zhang D. (2011). Phosphorus and certain metal sin parasol mushrooms (*Macrolepiota procera*) and soils from the Augustowska forest and Elk region in north-eastern Poland. Fresenius Enviromental Bulletin 20: 3044-3052.
26. Landa E.R. (2005). Microbial biogeochemistry of uranium mill tailings. Advances in Applied Microbiology 57: 113-130.
27. Malinowska E., Szefer P., Falandysz J. (2004). Metals bioaccumulation by bay Bollete, *Xerocomus badius*, from selected site sin Poland. Food Chemistry 84: 405-416.
28. Manzi, P.,A. Aguzzi, V.Vivanti, M. Pac, L. Pizzoferrato (1999). Mushrooms as source of functional ingredients. In Euro. Food Chem X European conference on functional foods. A new challenge for the food chemist, 86-93., Budapest
29. Marschner H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic press Inc.
30. Martinović J. (2003). Gospodarenje šumskim tlima u Hrvatskoj. Hrvatske šume, Jastrebarsko.
31. Mengel K., Kirkby E.A. (1979). Principles of Plant Nutrition. International Potash Institute, Berne, Switzerland, 2nd Edition.
32. Miko S., Halamić J., Peh Z., Galović L. (2001). Geochemical Base line Mapping of Soils Developed on Diverse Bedrock from Two Regions in Croatia. Gelogia Croatia 54: 53-118.
33. Nikkarinen M., Martanen E. (2004). Impact of geological origin on trace element composition of edible mushrooms. Joutnal of Food Composition and Analyses 17: 301-310.
34. Petrovšek S.S., Pokorny B. (2013). Lead and cadmium in mushrooms from the vicinity of two large emission sources in Slovenia. Science of the Total Environment 443: 944-954.

35. Romić D., Romić M., Ondrašek G., Dolanjski D., Stričević I., Salopek Z., Zovko M., Bakić H., Husnjak S., Igrc Barčić B. i Barić B. (2007). Pogodnost agro-ekosustava donje Neretve za integriranu hortikulturnu proizvodnju. Izvješće, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
36. Rudawska M., Leski T. (2005a). Trace element sin fruiting bodies of ectomycorrhizal fungi growing in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) stands in Poland. *Science of Total Environment* 339: 103-115.
37. Rudawska M., Leski T. (2005b). Macro and microelements contents in fruiting bodies of wild mushrooms from the Notecka forest in west-central Poland. *Food Chemistry* 92: 499-506.
38. Sager M. (2008). Trace element enrichment in Austrian soils from fertilization and regional effects. *Global Science Books*, second special issue of Dynamic Soil, Dynamic Plant, Compost II, Jesus Martin-Gil (Ed.) str. 115-131.
39. Sparks D. L. (2005). Toxic metals in the environment: the role of surfaces. *Elements* 1: 193–196.
40. Svoboda L., Chrastny V. (2008). Levels of eight trace element sin edible mushrooms from a rural area. *Food Additives and Contaminants* 25: 51-58.
41. Širić I. (2014). Teški metali u jestivim saprofitskim i ektomikoriznim gljivama Sjeverne i Primorske Hrvatske. Doktorski rad, Agronomski fakultet u Zagrebu.
42. Širić I., Kos I., Bedeković D., Kaić A., Kasap A. (2014). Heavy metal sin edible mushrooms *Boletus reticulatus* Schaeff. Collected from Zrin, mountain, Croatia. *Periodicum biologorum* 116: 319-322.
43. Thomas G. W. (1996). Soil pH and soil acidity. *Methods of soil analysis. Part 3-chemical methods*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy 5: 457-490.
44. Turkdogan K.M., Kilicel F., Kara K., Tuncer I., Uygan I. (2003). Heavy metal sin soli, vegetables and fruits in the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13: 175- 179.
45. Valiulis, D., D.Stankevičiene, K. Kviatkus, 1995: Metals accumulation in some fungi species growing in Lithuania. *Atmospheric Physics* 17: 47-51.

46. Vetter J. (2004). Arsenic content of some edible mushrooms species. *European Food Research and Technology* 219: 71-74.
47. Vetter, J. (2005). Mineral composition of basidiomes of *Amanita* species. *Mycological Research* 109: 746-750.
48. Vukadinović V. i Vukadinović V. (2011). Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet Osijek. Mikroelementi: 213-214, 224-227.
49. WHO (1997). Health and environmental in sustainable development. Geneva