

Heavy metals bioaccumulation by edible saprophytic mushrooms

Bioakumulacija teških metala u jestivim saprofitskim gljivama

Ivan ŠIRIĆ^{1*}, Ivica KOS¹, Ante KASAP¹, Fran Zvonimir PETKOVIĆ² and Valentino DRŽAIĆ¹

¹ University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science and Technology, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia. *correspondence: isiric@agr.hr

² Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia.

Abstract

The aim of this study was to determine the concentration of heavy metals Fe, Zn, Cu, Ni, Pb and Cd in certain edible species of saprophytic fungi and the substrate on three areas of sampling, and to assess the role of individual species as biological indicators of environmental pollution. In this study were used three species of wild edible mushrooms (*Agaricus macrocarpus* Bohus, *Clitocybe inversa* (Scop. ex Fr.) Pat. and *Macrolepiota procera* (Scop. ex Fr.) Sing.). Completely developed and mature fruiting bodies were collected at random selection in localities of Trakošćan, Jaska and Petrova gora. At the same time, the substrate soil samples were collected from the upper horizon (0-10). Determination of heavy metals in mushrooms and the substrate soil were carried out by X-ray Fluorescence Spectrometry. The data obtained were analysed by means of the statistical program SAS V9.2. Significant differences were found in the concentrations of Fe, Zn, Cu, Ni, Pb and Cd between analysed species of mushrooms and localities of sampling ($P < 0.05$). The highest mean concentrations ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) of Zn (98.25), Cu (88.07), Ni (3.80), Pb (5.06) and Cd (4.12) in *Agaricus macrocarpus* were determined, while the highest contents of Fe were determined in *Macrolepiota procera* ($126.19 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). The average distribution rates of investigated heavy metals in anatomical parts of the fruiting body were significantly different. All mushrooms species were biological excluders of Fe, Ni and Pb ($\text{BCF} < 1$). On the other hand, bio-accumulation features were established in the investigated mushroom species for metals Cd ($\text{BCF} > 1$). The consumption of investigated mushrooms poses no toxicological risk to human health due to low concentrations of analysed metals.

Keywords: bioaccumulation, ecology, edible mushrooms, heavy metals

Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi koncentracije teških metala Fe, Zn, Cu, Ni, Pb i Cd u određenim jestivim saprofitskim gljivama i supstratu na kojem rastu na tri lokaliteta uzorkovanja te prikladnost gljiva kao bioakumulatora navedenih elemenata. U istraživanju su korištene tri samonikle jestive gljive *Agaricus macrocarpus* (L) Fries, *Clitocybe inversa* (Scop. ex Fr.) Pat. i *Macrolepiota procera* (Scop. ex Fr.) Sing.,). Potpuno razvijena i zrela plodišta prikupljena su slučajnim odabirom na lokacijama Trakošćan, Jaska i Petrova gora. U isto vrijeme prikupljeni su uzorci supstrata tla gornjeg horizonta (0-10 cm). Analitički postupak za određivanje koncentracije teških metala u gljivama i supstratu tla proveden je metodom XRF – rendgenska fluorescentna spektrometrija. Dobiveni podaci su obrađeni statističkim programom SAS V9.2. Prosječne koncentracije ispitivanih metala značajno su se razlikovale ($P < 0,05$) između istraživanih vrsta gljiva i lokaliteta uzorkovanja. Najveća prosječna koncentracija ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Zn (98,25), Cu (88,07), Ni (3,80), Pb (5,06) i Cd (4,12) utvrđena je u vrsti *Agaricus macrocarpus*, dok je najveća prosječna koncentracija Fe utvrđena u vrsti *Macrolepiota procera* ($126,19 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Provedenim istraživanjem ustanovljene su značajne razlike u prosječnoj distribuciji teških metala između anatomskih dijelova plodnog tijela gljiva. Sve istraživane vrste gljiva isključene su kao mogući bioakumulatori za metale Fe, Ni i Pb ($\text{BCF} < 1$). S druge strane, bioakumulacijska svojstva utvrđena su u svim istraživanim vrstama gljiva za metal Cd ($\text{BCF} > 1$). S obzirom na ustanovljene koncentracije teških metala u gljivama i supstratu tla, može se zaključiti da okoliš istraživanog područja nije onečišćen analiziranim teškim metalima te konzumacija ispitivanih vrsta gljiva ne predstavlja negativan učinak za zdravlje ljudi.

Ključne riječi: bioakumulacija, ekologija, jestive gljive, teški metali

Detailed abstract

Numerous Scientifics researches are focused on improving and protection of the environment. One of the first steps to resolving problems of pollution is the researching and monitoring the presence and concentration of hazardous substances, especially heavy metals. According to previous studies it is known that fungi are accumulators of high concentrations of heavy metals, which varies more or less depending on factors such as species, habitats, morphological parts and the substrate. The increasing concentrations of heavy metals in mushrooms also increase the importance of fungi as biological indicators of environmental pollution. However, extremely high concentrations of toxic heavy metals in mushrooms can have negative effects on human health. The aim of this study was to determine the concentration of heavy metals Fe, Zn, Cu, Ni, Pb and Cd in certain edible species of saprophytic fungi and the substrate on three area of sampling, and to assess the role of individual species as biological indicators of environmental pollution. Sampling was done from September to December 2012 in three areas Trakošćan, Jaska and

Petrova gora, Croatia. Levels of heavy metals were determined in three edible mushroom species (20 samples per species/localities). All analyzed species were terrestrial saprophytes (*Agaricus campestris* (L) Fries, *Clitocybe inversa* (Scop. ex Fr.) Pat., and *Macrolepiota procera* (Scop. ex Fr.) Sing.). Completely developed and mature fruiting bodies were collected at random selection in localities of northern Croatia. Simultaneously with collecting mushrooms samples, the substrate soil samples were collected from the upper horizon (0-10). After collecting samples of mushrooms and substrate soils, we proceeded to determine the mushroom species and prepare the samples: cleaning, drying, and grinding. The determination of the pH value and organic content in substrate soil samples, as well as concentrations of heavy metals in soil and investigated mushrooms followed. The cap and stipe of the fruiting body were analysed separately. Determination of heavy metals in mushrooms and the substrate soil were carried out using generally accepted methods and tools (X-ray Fluorescence Spectrometry). Trace element contents in the soil were different depending on the sampling site. Also, significant differences were found in the concentrations of Fe, Zn, Cu, Ni, Pb, and Cd between analysed saprophytic species of mushrooms. The highest mean concentrations ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) of Zn (98.25), Cu (88.07), Ni (3.80), Pb (5.06) i Cd (4.12) in *Agaricus macrocarpus* were determined, while the highest contents of Fe determined in *Macrolepiota procera* ($126.19 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). The influence of the sampling area on the concentrations of heavy metals in mushrooms were determined to be significant ($P < 0.05$). The average distribution rates of investigated heavy metals in anatomical parts of the fruiting body were significantly different. Significantly higher concentrations of heavy metals were determined in the cap in relation to stipe of the mushrooms ($P < 0.001$). All mushrooms species were biological excludors of Fe, Ni and Pb ($\text{BCF} < 1$). On the other hand, bio-accumulation features were established in the investigated mushroom species for metals Cd ($\text{BCF} > 1$). The consumption of mushrooms harvested from the areas investigated poses no toxicological risk to human health due to considerably lower concentrations of Fe, Zn, Cu, Ni, Pb and Cd in relation to allowed concentrations in food.

Uvod

Onečišćenje okoliša jedan je od najozbiljnijih problema današnjice. Veliki napredak ljudske civilizacije ostvaren prvenstveno zahvaljujući razvoju novih tehnologija, neizbježno uzrokuje proizvodnju otpadnih tvari i štetnih supstanci, a osobito teških metala. Danas je njihova produkcija toliko velika da je ekološka ravnoteža mnogih ekosustava uzdrmana. Budući da se mnogi oblici onečišćenja šire velikim prostranstvima, problemu nije dovoljno pristupiti samo s lokalne razine, već njegovo rješavanje ili bolje reći ublažavanje zahtjeva veliki globalni angažman na mnogim razinama ljudskog planiranja i djelovanja. Dosadašnjim istraživanjima koncentracija štetnih supstanci u okolišu utvrđena je visoka osjetljivost brojnih saprofitskih i ektomikoriznih vrsta gljiva na onečišćenje supstrata i vode teškim metalima i metaloidima.

Gljive pripadaju zasebnoj mikrobiološkoj skupini organizama značajne ekološke, nutritivne i farmaceutske vrijednosti. Procjenjuje se da u svijetu postoji više od 100.000 vrsta gljiva (Kirk i sur., 2008), gdje se ubrajaju i niže gljive vidljive samo mikroskopskim pomagalima. Od ukupnog navedenog broja vrsta gljiva, oko 250 vrsta

je izvrsne kakvoće, drugih 250 otrovnih, a ostala većina je uglavnom nejestiva. Predmet ovog istraživanja su tri saprofitske vrste gljiva koje su sve prisutne u okolišu te su posebno vezane s površinskim slojem tla i raspadajućom biljnom tvari. Imaju vitalnu ulogu u razgradnji mrtve organske tvari, što je značajno za kruženje tvari u prirodi. Općenito, s ekološkog stajališta gljive su važni biološki indikatori onečišćenja okoliša i biološki čistači tla onečišćenog policikličkim aromatskim ugljikovodicima (PHA). Također, poznato je da gljive akumuliraju visoke koncentracije teških metala, metaloida i radionuklida (Kalač, 2010; Svoboda i sur., 2006; Vetter, 2004). Međutim, akumulacija teških metala u gljivama je kompleksno svojstvo koje ovisi o brojnim vanjskim i unutarnjim čimbenicima, njihovoj interakciji i genetskim karakteristikama vrste (Garcia i sur., 2009). Nadalje, razni ekološki čimbenici te kemijske osobine supstrata na kojim gljive rastu mogu utjecati na koncentraciju teških metala. Također, područje uzorkovanja (blizina industrijskih središta) ili jako onečišćena područja znatno utječu na povećane koncentracije teških metala u gljivama (Petkovšek i Pokorny, 2013).

S obzirom da su gljive izvor nutrijenata, ali i česti izvor toksičnih metala i metaloida, zdravstvene posljedice toksičnih teških metala konzumacijom samoniklih jestivi gljiva ne mogu se temeljito procijeniti, jer su podaci o biodostupnosti u ljudi vrlo ograničeni. Sukladno tome, potrebna su stalna praćenja i nadzor razine metala i metaloida u ljudskoj prehrani jednako u namirnicama biljnog i životinjskog porijekla, ali i u dodacima prehrani u ovom slučaju samoniklim gljivama, čija je opća popularnost i dostupnost na tržištu u stalnom porastu. Stoga je cilj ovog istraživanja utvrditi koncentracije teških metala (Fe, Zn, Cu, Ni, Pb i Cd) u jestivim saprotrofnim gljivama, anatomskim dijelovima (klobuk i stručak), supstratu na kojem rastu te prikazati prikladnost istraživanih vrsta gljiva kao bioakumulatora prema navedenim metalima.

Materijal i metode

Prikupljanje uzoraka gljiva i supstrata tla organizirano je i provedeno u 2012. godini na području kontinentalne Hrvatske, lokaliteti šumskih područja Petrova gora, Jaska okolice sela Izimje i Trakošćan. Na navedenim lokalitetima prikupljeni su uzorci od tri jestive saprofitske vrste gljiva iz tri zasebna roda. Potpuno razvijena i zrela plodišta vrsta *Agaricus macrocarpus* (L) Fries, *Clitocybe inversa* (Scop. ex Fr.) Pat. i *Macrolepiota procera* (Scop. ex Fr.) Sing., prikupljena su slučajnim odabirom (20 uzoraka po vrsti). Istodobno sa prikupljanjem uzoraka gljiva, prikupljeni su uzorci supstrata tla gornjeg horizonta (0 – 10 cm) nakon uklanjanja površinskog sloja (lišće i drveće) prema Garcii i sur. (2009). Determinacija navedenih vrsta gljiva izvedena je na istraživanom području i u laboratoriju na Agronomskom fakultetu prema uobičajenim ključevima (Bon, 1998; Božac, 2005). Nakon determinacije uzorci gljiva su očišćeni i odvojeni na anatomske dijelove klobuk (*pileus*) i stručak (*stipes*), te osušeni na 103 °C kroz 24 h do konstantne težine. Nakon sušenja uzorci su samljeveni na laboratorijskom mlinu (Retsch SM 200) kroz sito promjera otvora 1,0 mm i prešani na uređaju Spectro Press (Complex, USA) u trajanju od 10 minuta pod pritiskom 59.7 kg/mm². Prešanjem uzoraka izrađene su brikete odgovarajuće veličine (r = 32 mm, d = 6 mm, m = 5 g), koji su spremljeni i hermetički zatvoreni u plastične vrećice do očitavanja sadržaja teških metala. Koncentracija teških metala Fe, Zn, Cu, Ni, Pb i Cd utvrđivana je zasebno u anatomskim dijelovima klobuku i stručku.

Prikupljeni uzorci supstrata tla rastreseni su u plastične posude i prosušeni na sobnoj temperaturi kroz dva tjedna te samljeveni i prosijani kroz sito promjera otvora 2,0 mm. U pripremljenim uzorcima supstrata izvršeno je očitavanje pH vrijednosti u H₂O, sadržaj organske tvari te koncentracija teških metala Fe, Zn, Cu, Ni, Cr, Pb i Cd.

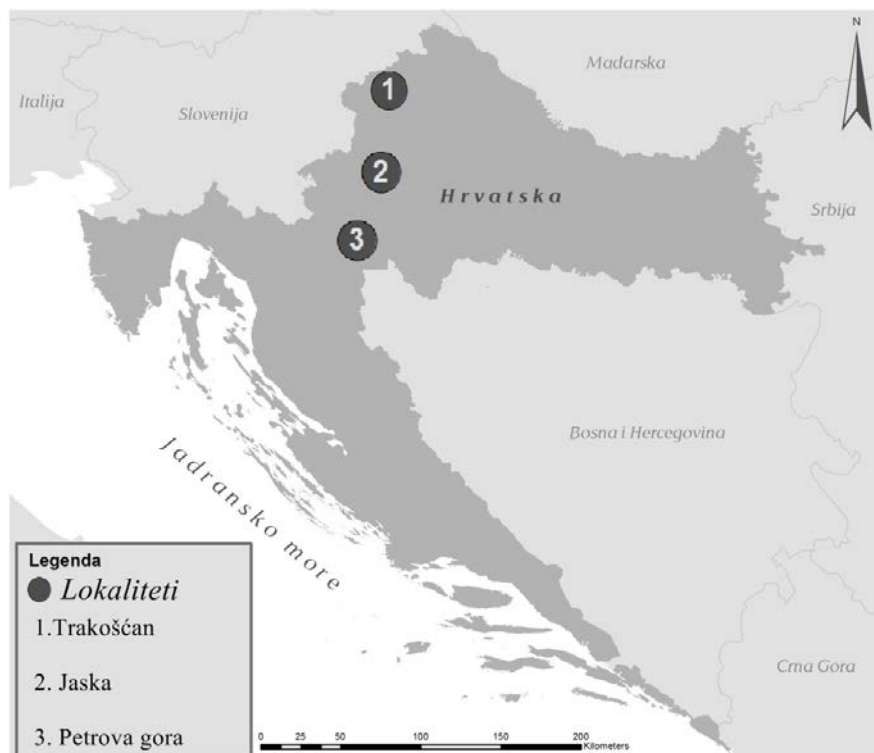
Vrijednosti pH uzoraka supstrata određena je potenciometrijski u suspenziji supstrata tla i destilirane vode (aktualna kiselost) u omjeru 1 : 5, a napravljena je prema metodi preuzetoj iz „Metode za analize tla“ (Thomas 1996), pomoću prijenosnog pH-metra IQ 150 (IQ Scientific Instruments, USA).

Sadržaj organske tvari u uzorku supstrata određen je gravimetrijski nakon spaljivanja organske tvari (2g supstrata osušenog na zraku) na 550 °C kroz 16 h u peći (Select – Horn. SELECTA) prema Melgaru i sur. (2009).

Analitički postupak za određivanje koncentracije teških metala u navedenim vrstama gljiva i supstratu tla provedeno je metodom Rendgenske fluorescentne spektrometrije (engl. X- rays fluorescence spectrometry) na uređaju XRF spektrometar (Twinx, Oxford Instruments, Velika Britanija). Kvalitativne analize XRF spektrometrom provode se za identifikaciju elemenata u periodnom sustavu između kalija – K i uranija – U (osim plemenitih plinova). Pripremljeni briketi omotani su sa folijom (Oxford Polyh) i stavljeni u cilindre za uzorke na uređaju XRF-spektrometar. Koncentracija Fe, Zn, Cu, Ni, Pb i Cd određena je pomoću PIN detektora (U = 26 kV, I = 115 μA, t = 300 s), a dobiveni rezultati izraženi su ppm suhe tvari odnosno mg*kg⁻¹.

Biokoncentracijski faktor (BCF) izračunati je kao kvocijent između koncentracije teških metala u plodnom tijelu gljive i koncentracije teških metala u supstratu tla.

Statistička obrada rezultata provedena softverskim paketom SAS STAT (2008) primjenom GLM statističke procedure.



Slika 1. Lokaliteti prikupljanja uzoraka gljiva i pripadajućeg tla
Figure 1. Area of sampling mushrooms and soil substrate



Slika 2. Istraživane vrste gljiva. A) *Agaricus macrocarpus*; B) *Clitocybe inversa*; C) *Macrolepiota procera* (Izvor: Glijivarsko društvo Boletus; osobna arhiva)

Figure 2. Analysed mushroom species. A) *Agaricus macrocarpus*; B) *Clitocybe inversa*; C) *Macrolepiota procera* (Source: Mushroom Association Boletus; personal archive)

Rezultati

Osobine tla (pH vrijednost i sadržaj organske tvari u tlu) te koncentracija Fe, Zn, Cu, Ni, Pb i Cd na istraživanim lokalitetima prikazani su u tablici 1. Iz navedene tablice razvidno je da se prosječne vrijednosti navedenih svojstava tla razlikuju ovisno o lokalitetu uzorkovanja. Tako je na lokalitetu Trakošćan utvrđena značajno ($P < 0,05$) najveća vrijednost pH tla od 6,67. Prosječna vrijednost reakcije tla na razini ispitivanih lokaliteta u iznosu od 6,50 ukazuje na slabu kiselu reakciju. Sadržaj humusa je u rasponu od 5,48 do 13,00% ovisno o lokaciji uzrokovanja, s prosječnom vrijednosti od 8,50%. Ustanovljena prosječna vrijednost organske tvari u tlu odgovara kategoriji jako humoznih tala ($> 5,00\%$). Nadalje, iz tablice 1. vidljivo je da najveću zastupljenost unutar skupine esencijalnih elemenata ima željezo, dok je najzastupljeniji toksični metal olovo. Značajno najveća ($P < 0,05$) prosječna koncentracija Fe od $9039,10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ustanovljena je na lokalitetu Trakošćan, dok je najmanja vrijednost Fe utvrđena na lokalitetu Jaska ($7168,78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Na lokalitetu Petrova gora utvrđena je značajno ($P < 0,05$) najveća prosječna koncentracija Zn, Cu i Pb u istraživanom supstratu tla (tablica 1). Prosječna koncentracija metala Ni varirala je između $11,42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Petrova gora) i $16,27 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Jaska). Nadalje, značajno najveća prosječna koncentracija toksičnog metala Cd od $0,75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ustanovljena je na lokalitetu Jaska, dok je najmanji prosječni sadržaj istog elementa u supstratu tla zabilježen na lokaciji Petrova gora ($0,45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Prikazane koncentracije teških metala u supstratu tla na istraživanim lokalitetima (tablica 1), poslužiti će nam za izračunavanje biokoncentracijskog faktora odnosno bioakumulacijskog potencijala ispitivanih vrsta gljiva.

Tablica 1. pH vrijednost, O.T. - organska tvar (%) i koncentracija teških metala u supstratu tla ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Table 1. pH value, O.T.- organic matter (%) and heavy metal concentrations in soil substrate ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

	Trakošćan	Jaska	Petrova gora
pH H ₂ O	$6,67 \pm 1,03^a$	$6,44 \pm 0,58^b$	$6,38 \pm 0,51^b$
O.T.%	$13,00 \pm 13,34^a$	$5,48 \pm 8,81^c$	$7,04 \pm 8,37^b$
Fe	$9039,10 \pm 1623^a$	$7168,78 \pm 1004^c$	$8510,21 \pm 1210^b$
Zn	$54,66 \pm 29,05^c$	$75,20 \pm 25,32^b$	$89,07 \pm 28,10^a$
Cu	$22,36 \pm 9,71^b$	$24,46 \pm 8,12^b$	$29,19 \pm 1,81^a$
Ni	$15,72 \pm 5,47^a$	$16,27 \pm 5,74^a$	$11,42 \pm 1,23^b$
Pb	$17,87 \pm 5,41^b$	$18,76 \pm 5,70^b$	$22,52 \pm 1,55^a$
Cd	$0,52 \pm 0,20^b$	$0,75 \pm 0,22^a$	$0,45 \pm 0,07^b$

^{a,b,c} Vrijednosti unutar reda označene različitim slovima značajno se razlikuju ($P < 0,05$).

^{a,b,c} Values in the row marked with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

Prosječne koncentracije teških metala Fe, Zn, Cu, Ni, Pb i Cd između istraživanih vrsta gljiva unutar lokacije te između različitih lokaliteta uzorkovanja prikazane su u tablici 2. Iz navedene tablice, razvidno je da se koncentracija ispitivanih teških metala razlikovala između ispitivanih vrsta gljiva između vrsta unutar lokacije uzorkovanja, ali i između različitih lokaliteta uzorkovanja. Prosječni sadržaj Fe kretao se u rasponu između $19,85 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ u *Agaricus macrocarpus* (Jaska) do $126,19 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ u *Macrolepiota procera* (Petrova gora). Navedena koncentracija Fe u vrsti *M. procera* značajno se razlikovala ($P < 0,05$) u odnosu na istu vrstu sa lokaliteta Jaska i Trakošćan. Analizom sadržaja metala cinka značajno ($P > 0,05$) najveće prosječne koncentracije ustanovljene su u vrsti *A. macrocarpus* na lokalitetima Petrova gora ($94,56 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) i Jaska ($98,25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Suprotno navedenom, najmanja prosječna koncentracija Zn od $50,00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ustanovljena je u vrsti *C. inversa* na lokalitetu Jaska. Istraživana vrsta *A. macrocarpus* akumulira značajno ($P < 0,05$) najveće prosječne koncentracije Cu na lokalitetu Jaska ($88,07 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), dok je na istom lokalitetu najmanja prosječna koncentracija od $21,90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ utvrđena u vrsti *C. inversa*. Također, predmetnim istraživanjem utvrđena je značajna ($P < 0,05$) razlika u sadržaju Cu između ispitivanih vrsta unutar istog lokaliteta uzorkovanja (tablica 3). Koncentracije Ni kretale su se u rasponu između $2,03 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ u vrsti *C. inversa* (Jaska) i $3,80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ u *Agaricus macrocarpus* (Trakošćan). Iz tablice 2 ravidno je kako navedena vrsta *A. macrocarpus* akumulira najveće koncentracije Ni i na ostalim lokalitetima uzorkovanja (Petrova gora i Jaska). Značajno najveća ($P < 0,05$) prosječna koncentracija Pb ($5,06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) utvrđena je u vrsti *Agaricus macrocarpus* čiji su uzorci prikupljeni na lokalitetu Jaska. Suprotno tome, na navedenom lokalitetu ustanovljena je i najmanja prosječna koncentracija Pb u vrsti *M. procera* ($1,14 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Istraživana vrsta iz roda *Agaricus* akumulirala je i značajno najveću ($P < 0,05$) prosječnu koncentraciju Cd od $4,12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, dok je značajno najmanja ($P < 0,05$) koncentracija Cd od $1,07 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ustanovljena u vrsti *C. inversa* na lokalitetu Petrova gora.

Tablica 2. Utjecaj vrste gljive i lokacije uzorkovanja na akumulaciju teških metala u istraživanim saprofitskim gljivama

Table 2. Effect of species and area of sampling on heavy metal accumulation in saprophytic mushrooms

		Fe			Zn			Cu		
F-test (8,141)		F = 10,89, P < 0,001			F = 11,25, P < 0,001			F = 31,00, P < 0,001		
Lokacija	Vrsta	Petrova gora	Jaska	Trakošćan	Petrova gora	Jaska	Trakošćan	Petrova gora	Jaska	Trakošćan
	<i>Agaricus macrocarpus</i>	121,75 ^a	19,85 ^e	106,89 ^{ab}	94,56 ^a	98,25 ^a	67,82 ^{bc}	46,88 ^{cd}	88,07 ^a	40,56 ^d
	<i>Clitocybe inversa</i>	90,99 ^{bc}	49,70 ^{de}	93,64 ^b	55,67 ^d	50,00 ^d	64,20 ^{bd}	23,76 ^e	21,90 ^e	23,46 ^e
	<i>Macrolepiota procera</i>	126,19 ^a	64,60 ^{cd}	84,86 ^{bc}	74,26 ^b	61,90 ^{bd}	60,43 ^{cd}	75,03 ^b	54,10 ^c	55,40 ^c
		Ni			Pb			Cd		
F-test (8,141)		F = 18,95, P < 0,001			F = 106,83, P < 0,001			F = 69,02, P < 0,001		
Lokacija	Vrsta	Petrova gora	Jaska	Trakošćan	Petrova gora	Jaska	Trakošćan	Petrova gora	Jaska	Trakošćan
	<i>Agaricus macrocarpus</i>	3,33 ^b	2,62 ^{cd}	3,80 ^a	1,98 ^b	5,06 ^a	1,60 ^{cd}	2,40 ^c	4,12 ^a	2,83 ^b
	<i>Clitocybe inversa</i>	2,84 ^c	2,03 ^e	2,81 ^{cd}	1,31 ^{ef}	1,37 ^{df}	1,32 ^{ef}	1,07 ^f	1,47 ^e	1,48 ^e
	<i>Macrolepiota procera</i>	2,94 ^c	2,43 ^{de}	3,67 ^a	1,70 ^c	1,14 ^f	1,52 ^{cde}	1,88 ^d	1,60 ^{de}	2,47 ^c

U tablici 3 prikazane su ukupne prosječne koncentracije teških metala Fe, Zn, Cu, Ni, Pb i Cd u anatomskim dijelovima plodnog tijela gljiva sa istraživanih lokaliteta. Predmetnim istraživanjem utvrđena je značajna razlika ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$) u koncentracijama istraživanih metala između ispitivanih anatomskih dijelova plodnog tijela analiziranih vrsta gljiva. Pritom, statistički značajno veća ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$) koncentracija analiziranih elementa utvrđena je u klobuku u odnosu na stručak u svim istraživanim vrstama gljiva (tablica 3).

Tablica 3. Distribucija teških metala između anatomskih dijelova plodnog tijela istraživanih vrsta gljiva

Table 3. Distribution of heavy metals between the anatomical parts of fruit bodies in analyzed mushrooms

Metal	<i>Agaricus macrocarpus</i>			<i>Clitocybe inversa</i>			<i>Macrolepiota procera</i>		
	Klobuk	Stručak	RZ	Klobuk	Stručak	RZ	Klobuk	Stručak	RZ
Fe	131,24	59,60	***	110,65	56,94	***	124,31	70,36	***
Zn	101,30	67,90	***	70,05	45,85	***	80,22	52,29	***
Cu	67,02	38,16	***	27,03	19,51	*	79,32	46,66	***
Ni	3,75	3,00	***	3,02	2,31	***	3,67	2,59	***
Pb	2,84	2,05	***	1,49	1,14	*	1,76	1,27	*
Cd	3,32	2,50	***	1,48	1,13	*	2,34	1,78	**

RZ – razina značajnosti; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

RZ – level of significance; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

U tablici 4 prikazane su vrijednosti biokoncentracijskog faktora za ispitivane vrste gljiva. Izrazito nizak biokoncentracijski faktor za Fe izračunat je u ispitivanim vrstama gljiva na istraživanim lokalitetima. Također, vrijednosti biokoncentracijskog faktora manje od 1 utvrđene su u za metale Ni i Pb u analiziranim gljivama. Vrsta *A. macrosporus* imala je biokoncentracijski faktor za metal cink veći od 1 na svim lokalitetima uzorkovanja, dok su ostale dvije istraživane vrste okarakterizirane kao slabi bioakumulatori cinka ($BCF < 1$). Također, slaba bioakumulatorska sposobnost prema metalu bakru utvrđena je za vrstu *C. inversa*. Suprotno navedenom, vrste *A. macrocarpus* i *M. procera* pokazale su izrazito dobar bioakumulacijski potencijal za metal Cu ($BCF > 1$). Također, predmetnim istraživanjem utvrđeno je da ispitivane vrste gljiva imaju izuzetno dobra biakumulatorska svojstva prema metalu kadmiju. Pritom, bitno je naglasiti vrstu *A. macrocarpus* kao izuzetno dobrog bioakumulatora kadmija, a za koju su izračunate najveće vrijednosti biokoncentracijskog faktora na svim istraživanim lokalitetima (tablica 4).

Tablica 4. Vrijednosti biokoncentracijskog faktora u istraživanim vrstama gljiva

Table 4. Values of bioconcentration factors in the mushrooms species

Vrsta/Species	BCF					
	Fe	Zn	Cu	Ni	Pb	Cd
Trakošćan						
<i>A. macrocarpus</i>	0,012	1,24	1,81	0,24	0,09	5,42
<i>C. inversa</i>	0,010	1,17	1,05	0,18	0,07	2,85
<i>M. procera</i>	0,009	1,11	2,48	0,23	0,09	4,75
Jaska						
<i>A. macrocarpus</i>	0,003	1,31	3,60	0,16	0,27	5,49
<i>C. inversa</i>	0,007	0,67	1,07	0,13	0,07	1,96
<i>M. procera</i>	0,009	0,82	2,21	0,15	0,06	2,13
Petrova gora						
<i>A. macrocarpus</i>	0,014	1,06	1,71	0,29	0,09	5,33
<i>C. inversa</i>	0,011	0,63	0,81	0,25	0,06	2,38
<i>M. procera</i>	0,015	0,83	2,57	0,26	0,07	4,18

BCF – Vrijednosti biokoncentracijskog faktora

BCF – Values of bioconcentration factor

Rasprava

Predmetnim istraživanjem ustanovljena koncentracija željeza u gljivama znatno je niža u odnosu na sadržaj željeza u supstratu tla na kojem rastu. Međutim, sukladno rezultatima istraživanja (Borovičke i Rande, 2007, te Širića i sur., 2016), vrsta gljive značajno je utjecala na akumulaciju Fe. Pritom je bitno naglasiti da su utvrđene koncentracije Fe u vrstama *A. macrocarpus*, *C. inversa* i *M. procera* bile znatno niže u odnosu na rezultate koje navode Borovička i Randa (2007), Kojta i sur. (2011), Širić (2014). Razlog tome je mogući utjecaj lokaliteta uzorkovanja što potvrđuju rezultati predmetnog istraživanja, ali gustoće i dubine micelija gljive te kemijskih osobina supstrata tla. Također, slabija akumulacija željeza u gljivama može se javiti zbog antagonizma s Mg, Mn, Zn te zbog tvorbe željeznih netopivih fosfata s fosforom Širić (2014). Nadalje, temeljem utvrđene koncentracije Fe u gljivama i supstratu tla, izračunate su vrijednosti biokoncentracijskog faktora. Iz tablice 4 razvidno je da su izračunate vrijednosti BCF-a u istraživanim gljivama znatno manje od 1, što potvrđuju rezultati istraživanja Malinowske i sur. (2004) i Širića i sur. (2016). Razlog niskom BCF je izrazito visoka koncentracija Fe u supstratu tla. Temeljem izračunatih vrijednosti BCF sve istraživane vrste mogu se okarakterizirati kao slabi bioakumulatori metala željeza. Općenito, vrste gljiva se razlikuju s obzirom na usvajanje i raspodjelu Fe u anatomskim dijelovima plodnog tijela gljiva (Falandysz i sur., 2011; Jarzynska i Falandysz, 2012; Kalač, 2010; Kojta i sur., 2011). Pritom su

značajno veće ($P < 0,001$) koncentracije utvrđene u klobuku u odnosu na stručak. Navedene razlike u raspodjeli mogu biti povezane sa raspodjelom drugih elemenata u plodnom tijelu gljive, ali i sa sadržajem proteina u sporama na himeniju, kao što navode (Garcia i sur., 2009; Garcia i sur., 2013; Melgar i sur., 2009) za metale Cr, Pb, Cd i Hg.

Ustanovljena ukupna prosječna koncentracija Zn u gljivama na istraživanim lokalitetima bila je neznatno manja od koncentracije cinka u supstratu tla ($69,71$ nasuprot $72,97 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Navedeno je u skladu sa rezultatima istraživanja Borovičke i Rande (2007) koji su došli do zaključka da su vrijednosti cinka u gljivama približno ujednačene sa koncentracijom cinka u tlu ili nešto veće ovisno o vrsti gljive i lokalitetu uzorkovanja. Sukladno tome, provedenim istraživanjem utvrđen je značajan utjecaj vrste gljive i lokaliteta uzorkovanja na koncentraciju Zn ($P < 0,05$). Pritom najveća prosječna koncentracija Zn ustanovljena u vrsti *A. macrocarpus* na lokalitetu Jaska bila je istovjetna rezultatima Širića (2014) za vrstu iz roda *Agaricus*. Međutim, Alonso i sur. (2003) navode znatno veće koncentracije Zn u vrstama iz roda *Agaricus*, a što se može pripisati području uzorkovanja, ali i starosti plodnih tijela te gustoći i dubini micelija gljiva (Rudawska i Leski, 2005). Također, dostupnost Zn iz supstrata tla u velikoj mjeri ovisi o odgovarajućim anionima, ali i vrijednosti pH tla. Pored toga, ako se uzme u obzir da u ukupnim atmosferskim depozicijama cinka na globalnoj razini antropogeni udio iznosi 66,00%, a da je tijekom proteklih desetljeća godišnja emisija cinka na svjetskoj razini dosegla 1.350.000 tona (Singh i sur., 2003), moguć je i djelomičan utjecaj atmosferskih depozicija na akumulaciju Zn u gljivama. Nadalje, sukladno utvrđenom najvećem sadržaju Zn u vrsti *A. macrocarpus*, ustanovljene su i najveće vrijednosti BCF od 1,31, dok su ostale dvije istraživane vrste gljiva sa lokaliteta Jaska i Petrova gora slabi bioakumulatori cinka ($\text{BCF} < 1$). Rezultati istraživanja Alonsa i sur. (2003) te Rudawske i Leskog (2005) ukazuju na znatno veće vrijednosti biokoncentracijskog faktora u odnosu na provedeno istraživanje. Razlog navedenom su utvrđene više koncentracije Zn u supstratu tla u odnosu na rezultate istraživanja navedenih autora. Nadalje, raspodjela cinka se razlikovala između anatomskih dijelova plodnog tijela klobuka i stručka. Pritom je značajno veća koncentracija utvrđena u klobuku u odnosu na stručak, što potvrđuju rezultati istraživanja Rudawske i Leskog (2005) te Alonsa i sur. (2003). Razlog navedenom može biti veća biološka aktivnost spora na himeniju u odnosu na ostatak plodnog tijela gljiva (Chang i Chan, 1973).

Prema navodima Kalača (2010) koncentracija Cu u brojnim vrstama gljiva s nezagađenog područja bila je u rasponu između 20 i $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Sukladno tome, utvrđene prosječne koncentracije Cu u istraživanim vrstama gljiva bile su u navedenom rasponu. Također, utvrđena je značajna ovisnost koncentracije Cu o samoj vrsti gljive, ali i lokalitetu uzorkovanja. Pritom je najveća prosječna koncentracija ustanovljena u vrsti *A. macrocarpus* na lokalitetu Jaska, što je u skladu sa rezultatima istraživanja Alonsa i sur. (2003) te Svobode i Chrastnya, (2008). Navedeni autori vrste iz roda *Agaricus* i *Macrolepiota* smatraju hiperakumulatorima za Cu, što potvrđuju rezultati predmetnog istraživanja. Nadalje, uspoređujući sadržaj Cu u gljivama i supstratu tla, razvidno je da većina ispitivanih vrsta gljiva akumulira veće koncentracije Cu u odnosu na supstrat tla. U skladu s tim, utvrđene vrijednosti BCF u vrstama *A. macrocarpus* i *M. procera* bile su znatno veće od 1 te su navedene vrste okarakterizirane kao dobri bioindikator onečišćenja okoliša. Slične rezultate

istraživanja navode Alonso i sur. (2003) te Kalač i Svoboda (2000). Iz tablice 3 razvidno je da koncentracije Cu nisu ravnomjerno raspoređene unutar plodnog tijela gljiva. Sukladno tome, predmetnim istraživanjem utvrđena je značajno veća ($P < 0,05$; $P < 0,001$) koncentracija Cu u klobuku u odnosu na stručak, što je u skladu s rezultatima istraživanja Jarzynske i Falandysza (2012), Kalača (2010) te Kojte i sur., (2011). Kao osnovni razlog prikazanom, autori navode veću biološku aktivnost spora na himeniju koje su sastavni dio klobuka gljiva. Na temelju ustanovljenih koncentracija Cu u klobuku i stručku, može se reći da translokacijski potencijal ovisi o vrsti gljive, što potvrđuju rezultati istraživanja Alonsa i sur. (2003).

Sukladno rezultatima ranijih istraživanja prosječne koncentracije nikla u ispitivanim vrstama gljiva bile su značajno različite ovisno o vrsti gljive i lokalitetu uzorkovanja. Tako je predmetnim istraživanjem utvrđena najveća koncentracija Ni u vrsti *A. macrocarpus*, što je u skladu s rezultatima istraživanja Sarikurkcu i sur. (2011). Međutim, Širić (2014), navodi znatno veće koncentracije Ni u vrsti roda *Agaricus*. Uz utjecaj područja uzorkovanja, navedena razlika i sadržaju Ni prvenstveno se može pripisati utjecaju gnojidbe, jer vrsta *Agaricus campestris* uglavnom raste na livadama, pašnjacima ili kukuružištima. Uspoređujući prosječni sadržaj Ni u supstratu tla s onim u gljivama, vidljivo je da sve ispitivane vrste gljiva akumuliraju niže koncentracije Ni u odnosu na sadržaj u tlu. U skladu s tim vrijednosti BCF-a bile su manje od 1 te istraživane vrste gljiva predstavljaju slabe sakupljače nikla, odnosno može se reći da su slabi bioindikatori onečišćenja okoliša niklom. Nadalje, istraživane vrste gljiva razlikuju se s obzirom na usvajanje i distribuciju Ni između klobuka i stručka. Tako je, sukladno rezultatima Brzostowskog i sur. (2012) te Jarzynske i Falandysza (2012) utvrđena statistički značajno veća ($P < 0,001$) koncentracija Ni u klobuku u odnosu na stručak u istraživanim vrstama gljiva. Temeljem utvrđenih koncentracija nikla u antomskim dijelovima plodnog tijela, može se reći da biološka aktivnost spora na himeniju koji je sastavi dio klobuka te veći sadržaj proteina i enzima uzrokuju veće koncentracije Ni u klobuku nego u stručku.

Pregledom rezultata istraživanja objavljenih do 2015 godine, sadržaj Pb u brojnim vrstama gljiva s nezagađenog područja bio je u rasponu između $0,5$ i $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Kalač, 2010; Petkovšek i Pokorny, 2013; Širić i sur., 2014;) ovisno o vrsti i lokalitetu uzorkovanja, što potvrđuju rezultati predmetnog istraživanja. Međutim, autori navode i nakoliko vrsta gljiva koje imaju visok akumulacijski potencijal za Pb, kao što su *Agaricus campestris*, *Rozites caperatus* i *Macrolepiota procera*. U skladu s tim, najveća prosječna koncentracija Pb ustanovljena je u vrsti *Agaricus macrocarpus* na istraživanim lokalitetima i bila je značajno veća ($P < 0,05$) u odnosu na koncentracije Pb u ostalim istraživanim vrstama gljiva. Međutim, koncentracija Pb utvrđena u vrsti *M. procera* i *C. inversa* bile su znatno niže u odnosu na rezultate istraživanja Kojte i sur. (2011) te Petkovšeka i Pokornya (2013). Navedene razlike prvenstveno se mogu pripisati području uzorkovanja te kemijskim osobinama tla vrijednost pH i sadržaj organske tvari. Uz to, atmosferse depozicije (blizina prometnica) mogu utjecati na povišen sadržaj Pb u gljivama, iako Tuzen i sur. (1998) prikazuju da te vrijednosti nisu značajne, što je kontradiktorno navodima Adriana i sur. (2004) te Jorhema i Sundstroma (1995). Ustanovljene koncentracije Pb u gljivama znatno su niže u odnosu na utvrđene koncentracije u površinskom sloju tla (tablica 1). Temeljem navedenog, izračunate vrijednosti BCF bile su znatno manje od 1, što je u skladu s navodima Garcia i sur. (2009) i Kojta i sur. (2011). Sukladno tome, može se reći da

su istraživane vrste gljiva slabi bioakumulatori istraživanog metala. Nadalje, kao i u ostalih istraživanih elementa, distribucija Pb u plodnom tijelu gljiva nije bila ravnomjerno raspoređena između anatomskih dijelova plodnog tijela gljiva. Tako je značajno veća koncentracija Pb utvrđena u klobuku u odnosu na stručak u ispitivanim vrstama gljiva. Navedeno je u skladu s rezultatima istraživanja Jarzynske i sur. (2011) i Kojte i sur. (2011). Obzirom da su spore na himeniju sastavni dio klobuka, veća biološka aktivnost različitog udjela proteina u sporama uzrokovala je veći sadržaj Pb u klobuku u odnosu na stručak (Garcia i sur., 2009 citirano prema Chang i Chan, 1973).

Obzirom da je Cd jedan od najviše istraživanih toksičnih metala, utvrđene prosječne koncentracije u gljivama bile su između $0,5$ i $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Kalač, 2010; Kojta i sur., 2011; Petkovšek i Pokorny, 2013), što potvrđuju rezultati predmetnog istraživanja. Provedenim istraživanjem utvrđena je značajna razlika u koncentraciji Cd između istraživanih gljiva i istraživanih lokaiteta Cd (tablica 2). Pritom je bitno naglasiti da je ustanovljena najveća prosječna koncentracija Cd u vrsti *A. macrocarpus*, sukladna rezultatima istraživanja Petkovškega i Pokornya (2013). Nadalje, uspoređujući koncentracije Cd u istraživanim vrstama gljiva i supstratu tla, vidljiva je znatno veća koncentracija Cd u gljivama. U skladu s tim, izračunate vrijednosti biokoncentracijskog faktora bile su veće od 1 za sve istraživane vrste gljiva, pri čemu su najbolja bioindikatorska svojstva utvrđena u vrsti *A. macrocarpus*. Navedeno potvrđuju rezultati istraživanja Kojte i sur. (2011). Obzirom da je Cd metal površinskog sloja tla, očekivano dobra bioindikatorska svojstva utvrđena su za ispitivane saprofitske vrste gljiva koje rastu na samoj površini supstrata tla. Klobuci ispitivanih vrsta gljiva akumulirali su značajno veće koncentracije Cd u odnosu na stručak. Slične rezultate navode Thomet i sur. (1999), a kao zaključak navode kako na distribuciju Cd u gljivama nije utjecala vrsta gljive kao ni akumulacija drugih elemenata. Temeljem toga, može se reći da je usvajanje Cd i njegova raspodjela u plodnom tijelu gljive kontrolirana s dva odvojena mehanizma.

Zaključak

Temeljem rezultata istraživanja koncentracija teških metala Fe, Zn, Cu, Ni, Pb i Cd može se zaključiti sljedeće. Akumulacija teških metala primarno ovisi o vrsti gljive. Također, predmetnim istraživanjem utvrđen je značajan utjecaj lokaliteta uzorkovanja na koncentraciju teških metala u ispitivanim vrstama gljiva. Najveći akumulacijski potencijal za metale Zn, Cu, Ni, Pb i Cd ustanovljen je u vrsti *Agaricus macrocarpus*, dok je najveća koncentracija Fe utvrđena u vrsti *Macrolepiota procera*. Distribucija teških metala značajno se razlikovala između anatomskih dijelova plodnog tijela gljiva klobuka i stručka. Pritom je bitno naglasiti kako je značajno veća koncentracija ispitivanih metala utvrđena u klobuku u odnosu na stručak. Temeljem rezultata analiza tla može se zaključiti da se radi o tlima bogatim humusom, slabo kisele reakcije, dok je ustanovljeni sadržaj teških metala u supstratu tla u dopuštenim graničnim vrijednostima. Utvrđene vrijednosti biokoncentracijskog faktora ukazuju da sve ispitivane vrste gljiva imaju slab bioakumulatorski potencijal za metale Fe, Ni i Pb, dok su dobra bioakumulatorska svojstva u istraživanim gljivama ustanovljena za metale Cu i Cd ($\text{BCF} > 1$). Temeljem utvrđenih koncentracija teških metala u gljivama i supstratu tla može se zaključiti da okoliš istraživanog područja nije onečišćen

ispitivanim teškim metalima te konzumacija proučavanih vrsta gljiva ne predstavlja toksikološki rizik za zdravlje ljudi.

Literatura

- Adriano, D.C., Bolan, N.S., Vangronsveld, J., Wenzel, W. W. (2004) Heavy metals. In: J.L. Hatfield ed. (2004) Encyclopedia of Soils in the Environment, 175-182.
- Alonso, J., Garcia, M. A., Pérez-López, M., Melgar, M.J. (2003) The concentrations and bioconcentration factors of copper and zinc in edible mushrooms. *Archive of Environmental Contamination and Toxicology*, 44, 180-188.
- Bon, M. (1998) *Pareys Buch der Pilze*. Hamburg-Berlin: Verlag Paul Parey.
- Borovička, J., Randa, Z. (2007) Distribution of iron, cobalt, zinc and selenium in macrofungi. *Mycological Progress*, 6, 249-259. [DOI:http://10.1007/s11557-007-0544-y](http://doi.org/10.1007/s11557-007-0544-y)
- Božac, R. (2005) *Enciklopedija gljiva 1*. Zagreb: Školska knjiga.
- Brzostowski, A., Falandysz, J., Jarzynska, G., Dan, Z. (2012) Bioconcentration potential of metallic elements by Poison Pax (*Paxillus involutus*) mushroom. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 46, 378-393. [DOI:http://doi/abs/10.1080/10934529.2011.542387](http://doi.org/10.1080/10934529.2011.542387)
- Chang, S.T., Chan, K.Y. (1973) Quantitative and qualitative changes in proteins during morphogenesis of the basidiocarp of *Volvariella volvacea*. *Mycologia*, 65, 355-364.
- Falandysz J., Frankowska, A., Jarzynska, G., Dryzalowska, A., Kojta, K.A., Zhang, D. (2011) Survey on composition and bioconcentration potential of 12 metallic elements in King Bolete (*Boletus edulis*) mushroom that emerged at 11 spatially distant sites. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 46, 231-246. [DOI:http://doi/abs/10.1080/03601234.2011.540528](http://doi.org/10.1080/03601234.2011.540528)
- Garcia, M. Á., Alonso, J., Melgar, M. J. (2009) Lead in edible mushrooms. Levels and bioaccumulation factors. *Journal of Hazard Materials*, 167, 777-783. [DOI:10.1016/j.jhazmat.2009.01.058](http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.058)
- Garcia, M. A., Alonso, J. Melgar, M. J. (2013) Bioconcentration of chromium in edible mushrooms: Influence of environmental and genetic factors. *Food Chemical and Toxicology*, 58, 249-254. [DOI:10.1016/j.fct.2013.04.049](http://doi.org/10.1016/j.fct.2013.04.049)
- Jarzynska, G., Falandysz, J. (2012) Metallic elements profile of Hazel (Hard) Bolete (*Leccinum griseum*) mushroom and associated upper soil horizon. *African Journal of Biotechnology*, 11, 4588-4594.
- Jarzynska, G., Gucia, M., Kojta, A. K., Rezulak, K., Falandysz, J. (2011) Profile of trace elements in Parasol Mushroom (*Macrolepiota procera*) from Tucholskie Forest. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 46, 741-751.

- Jorhem, L., Sundstroöm, B. (1995) Levels of some trace elements in edible fungi. *Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 201, 311-316.
- Kalač, P. (2010) Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000-009. *Food Chemistry*, 122, 2-15. [DOI:10.1016/j.foodchem.2010.02.045](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.045)
- Kalač, P., Svoboda, L. (2000) A review of trace elements concentrations in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 69, 273-281. [DOI:10.1016/S0308-8146\(99\)00264-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00264-2)
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., Stalpers, J. A. (2008) *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the funghi*. Wallingford: CAB International.
- Kojta, A.K., Gucia, M., Jarzynska, G., Lewandowska, M., Zakrzewska, A., Falandysz, J., Zhang, D. (2011) Phosphorus and certain metals in parasol mushrooms (*Macrolepiota procera*) and soils from the Augustowska forest and Elk region in north-eastern Poland. *Fresenius Environmental Bulletin*, 20, 3044-3052.
- Malinowska, E., Szefer, P., Falandysz, J. (2004) Metals bioaccumulation by bay bolete, *Xerocomus badius*, from selected sites in Poland. *Food Chemistry*, 84, 405-416. [DOI:10.1016/S0308-8146\(03\)00250-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00250-4)
- Melgar, M. J., Alonso, J., Garcia, M. A. (2009) Mercury in edible mushrooms and underlying soil: Bioconcentration factor and toxicological risks. *Science of the Total Environment*, 407, 2328-2334. [DOI:10.1016/j.scitotenv.2009.07.001](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.07.001)
- Petkovšek, 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. [DOI:10.1016/j.scitotenv.2012.11.007](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.007)
- Rudawska, M., Leski, T. (2005) Trace elements in fruiting bodies of ectomycorrhizal fungi growing in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) stands in Poland. *Science of the Total Environment*, 339, 103-115. [DOI:10.1016/j.scitotenv.2004.08.002](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.08.002)
- Sarikurkcü, C., Copur, M., Yildiz, D., Akata, I. (2011) Metal concentration of wild edible mushrooms in Soguksu National Park in Turkey. *Food Chemistry*, 128, 731-734. [DOI:10.1016/j.foodchem.2011.03.097](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.097)
- SAS STAT (2008) *Online Doc Software Release 9.2*. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Singh, O. V., Labana, S., Pandey, G., Budhiraja, R., Jain, R. K. (2003) Phytoremediation: an overview of metallion decontamination from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 405-412.
- Svoboda, L., Havličková, B., Kalač, P. (2006) Contents of cadmium, mercury and lead in edible mushrooms growing in a historical silver-mining area. *Food Chemistry*, 96, 580-585. [DOI:10.1016/j.foodchem.2005.03.012](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.012)
- Svoboda, L., Chrastny, V. (2008) Levels of eight trace elements in edible mushrooms from a rural area. *Food Additive and Contamination*, 25, 51-58.

- Širić, I. (2014) Teški metali u jestivim saprofitskim i ektomikoriznim gljivama sjeverne i primorske Hrvatske. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
- Širić, I., Kasap, A., Kos, I., Markota, T., Tomić, D., Poljak, M. (2016) Heavy metal contents and bioaccumulation potential of some wild edible mushrooms. Šumarski list, 1-2, 17-28.
- Širić, I., Kos, I., Bedeković, D., Kaić, A., Kasap, A. (2014) Heavy metals in edible mushrooms *Boletus reticulatus* Schaeff. collected from Zrin, mountain, Croatia. Periodicum biologorum, 116 (3), 319-322.
- 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.
- Thomet, U., Vogel, E., Krahenbuhl, U. (1999) The uptake of cadmium and zinc by mycelia and their accumulation in fruiting bodies of edible mushrooms. European Food Research and Technology, 209, 317-324.
- Tuzen, M., Ozdemir, M., Demirbas, A. (1998) Study of heavy metals in some cultivated and uncultivated mushrooms of Turkish region. Food Chemistry, 63, 247-251.
- Vetter, J. (2004) Arsenic content of some edible mushroom species. European Food Research and Technology, 219, 71-74. [DOI:http:// 10.1007/s00217-004-0905-6](http://dx.doi.org/10.1007/s00217-004-0905-6)