

Stručni članak  
*Professional paper*

Anton Brenko<sup>1\*</sup>, Jasnica Medak<sup>2</sup>, Marija Gradečki-Poštenjak<sup>3</sup>, Nevenka Čelepirović<sup>4</sup>, Ivica Čehulić<sup>5</sup>,  
Tamara Jakovljević<sup>6</sup>, Sanja Novak Agbaba<sup>7</sup>, Ivana Zegnal<sup>2</sup>

## KONTROLIRANO NAKLIJAVANJE I INOKULACIJA HRASTA CRNIKE (*Quercus ilex* L.) S DVIJE VRSTA RODA *Tuber*

### SAŽETAK

Tartufi (rod *Tuber*) su podzemne gljive koje se intenzivno uzgajaju zbog svoje gastronomske vrijednosti i pada prirodne proizvodnje. Suvremeni uzgoj tartufa temelji se na sadnji inokuliranih sadnica na prikladnim zemljištima odgovarajućih ekoloških uvjeta za dovršetak životnog ciklusa gljive. Svrha istraživanja je pronaći optimalnu metodu inokulacije koja će osigurati zadovoljavajući stupanj mikorizacije. Kao biljka domaćin izabrana je crnika (*Quercus ilex* L.) jer je ona prirodni simbiot crnog i ljetnog tartufa, naša je autohtona vrsta hrasta te ekološki odgovara staništu planiranih plantaža. Upotreba inokuliranih sadnica s micelijem tartufa vrlo je široka, kao npr. podizanje plantaža, pošumljavanje i rekuperacija degradiranih staništa ili pak slobodna prodaja istih. Istraživanjem su testirane tri metode čuvanja i naklijavanja žira, dvije metode inokulacije (inokulacija supstratom i inokulacija ubrizgavanjem u supstrat) s različitim dozama mineralnog gnojiva i različitim tretmanima fulvinskom kiselinom. Postavljeno je 19 različitih pokusa s ukupno 1320 sadnica hrasta crnike inokuliranih s dvjema vrstama roda *Tuber*, crnim tartufom (*Tuber melanosporum* (Vittad.)) te ljetnim tartufom (*Tuber aestivum* (Wulfen) Spreng.).

**Ključne riječi:** crni tartuf, ljetni tartuf, mikoriza, plantaže, pošumljavanje, poljošumarstvo, nedrvni šumski proizvodi

---

<sup>1</sup> Hrvatski šumarski institut, Centar za općekorisne funkcije šuma „Josip Ressel“, 154. brigade Hrvatske vojske 2, 52 000 Pazin, Hrvatska

<sup>2</sup> Hrvatski šumarski institut, Zavod za ekologiju šuma, Cvjetno naselje 41, 10 450 Jastrebarsko, Hrvatska

<sup>3</sup> Hrvatski šumarski institut, Zavod za uzgajanje šuma, Cvjetno naselje 41, 10450 Jastrebarsko, Hrvatska

<sup>4</sup> Hrvatski šumarski institut, Laboratorij za molekularno-genetička ispitivanja, Cvjetno naselje 41, 10450 Jastrebarsko, Hrvatska

<sup>5</sup> Hrvatski šumarski institut, Odjel rasadničke proizvodnje, Cvjetno naselje 41, 10450 Jastrebarsko, Hrvatska

<sup>6</sup> Hrvatski šumarski institut, Laboratorij za fizikalno-kemijska ispitivanja, Cvjetno naselje 41, 10450 Jastrebarsko, Hrvatska

<sup>7</sup> Hrvatski šumarski institut, Zavod za zaštitu šuma i lovno gospodarenje, Cvjetno naselje 41, 10450 Jastrebarsko, Hrvatska

\* Kontakt autor: Anton Brenko (antonb@sumins.hr)

## UVOD

Tartufi (rod *Tuber*) su podzemne ektomikorizne gljive koje s korijenjem viših biljaka stupaju u simbiotske odnose. U takvoj mutualističkoj simbiozi biljka predaje tartufima produkte fotosinteze, dok zauzvrat gljiva veže i predaje korijenu biljke mineralna hranjiva, posebice ona koja su u svom elementarnom stanju, poput fosfora, biljci teško dostupna. Biljke koje stupaju u mikorizne odnose bolje se prilagođavaju izmijenjenim uvjetima staništa, snažnijeg su rasta te su otpornije na sušu, posolicu i temperaturne ekstreme.

Razvoj metoda inokulacije sadnica započeo je s plantažnim uzgojem tartufa. Prve plantaže tartufa u Europi podignute su 1975. godine u Italiji i 1977. godine u Francuskoj u kojima se uzgaja crni tartuf (*T. melanosporum*). Najveća plantaža tartufa u Španjolskoj podignuta je 1979. godine na površini od 600 ha. Plantažni uzgoj ljetnog tartufa (*T. aestivum*) raširio se tek početkom 21. stoljeća, metodom sadnje inokuliranih sadnica, zbog čega se ljetni tartuf plantažno uzgaja i u zemljama u kojima nema prirodnog pridelaska, kao npr. Novi Zeland (Samils i sur., 2008).

Ljetni tartuf javlja se u prirodi u 26 od 27 zemalja Europske unije (osim Finske). Izvan Europe javlja se u Maroku i Turskoj. Za razliku od crnog tartufa, ljetni tartuf je manje termofilan, zahtijeva više vode i prilagođava se različitim tipovima tala: od pjeskovitih do glinovitih, vapnenačkim i manje vapnenačkim, više ili manje humusnim. U Europi, kultivacija crnog tartufa limitirana je 50. paralelom na sjeveru (Amiens, Francuska) i Španjolskom i Italijom na jugu. Danas se kultivacija crnog tartufa osim u Europi odvija u Australiji, Izraelu, Novom Zelandu, SAD-u i Maroku, dok se kultivacija ljetnog tartufa osim u Francuskoj, Španjolskoj i Italiji odvija i u Austriji, Mađarskoj, Novom Zelandu, Švedskoj, Njemačkoj, Velikoj Britaniji, Finskoj, Slovačkoj, Sloveniji, Srbiji, Švicarskoj i SAD-u (Chevalier, 2010).

Iako se metode inokulacije istražuju u zemljama zapadne Europe već nekoliko desetljeća, one su same vrlo različite i ovisne o ekološkim uvjetima tartufa, biljaka domaćina te mikro-lokacijama gdje će se takve biljke koristiti (šume i/ili plantaže). Specifične metode inokulacije često se smatraju „poslovnim tajnama“ pojedinih proizvođača, dok su one općenite metode podrobno opisane u raznim znanstvenim i stručnim člancima.

Projekt kontroliranog naklijavanja i inokulacije hrasta crnike (*Quercus ilex* L.) dvjema vrstama roda *Tuber* započeo je u listopadu 2021. godine u laboratoriju i rasadniku Hrvatskog šumarskog instituta u suradnji s tvrtkom Hrvatske šume d.o.o., Upravom šuma podružnica Buzet s ciljevima (i) proizvodnje biljaka za podizanje plantaža te (ii) za potrebe pošumljavanja i rekuperacije degradiranih staništa, (iii) razvoja protokola inokulacije, (iv) razvoja znanstvene podloge

za potrebe prilagodbe zakonskih i podzakonskih akata Republike Hrvatske europskim direktivama vezanim uz primarnu poljoprivrednu proizvodnju te proizvodnju, sakupljanje i korištenje nedravnih šumskih proizvoda i (v) pružanja savjetodavnih i konzultantskih usluga, razvoja tržišta inokuliranih sadnica te implementacije projekta na ruralnim gospodarstvima Republike Hrvatske. Projektom će se istražiti i mogućnost primjene inokuliranih sadnica u poljo-šumarstvu, odnosno kombinacija uzgoja šumskih i poljoprivrednih vrsta na istim površinama, kao npr. međuredni uzgoj medonosnih i/ili ljekovitih vrsta bilja na plantažama tartufa te razvoj turističkih i znanstveno-istraživačkih aktivnosti na plantažama u svrhu poticanja razvoja ruralne ekonomije.

## MATERIJALI I METODE

Žirevi crnike za kontrolirano naklijavanje sakupljeni su u prosincu 2021. godine, a sakupili su ih djelatnici šumarije Pula iz sjemenske sastojine nedaleko od Šišana. Žirovi su prije skladištenja podvrgnuti tretmanu termoterapije s ciljem površinske sterilizacije. Osim sterilizacije, termoterapija je postupak u kojem se flotacijom dobri žirevi odvajaju od loših. Iako je upotreba fungicida prije skladištenja sjemena uobičajena praksa u rasadničarstvu, u ovom pokusu je ona izostavljena kako bi se izbjegao negativan utjecaj na buduću uspostavu mikorize. Žirevi su skladišteni u hladnoj komori pri temperaturi od 1-4 °C. Također, dio žireva skladišten je u kontejnerima sa supstratom za naklijavanje, u periodu od mjesec dana, kako bismo utvrdili može li se sam proces klijanja odgoditi, odnosno produžiti.

Žirevi su posađeni u kombinirane kontejnere s 33 sadna mjesta (Bosnaplast) i stiroporne kontejnere dimenzija 40 × 60 × 15,6 cm (Slike 1 i 2) i razmakom sadnje među žirevima 5 cm, čime smo htjeli utvrditi razlike u razvoju korijena i mogućnosti skladištenja žirova u supstratu. Kao supstrat za naklijavanje koristili smo smjesu vermikulita i perlita u omjeru 2:1. Kvaliteta sjemena određena je ISTA metodama, a zdravstveno stanje fitopatološkim metodama (Gradečki i sur. 2018). Ukupno je posađeno 3 128 žireva crnike.

Kao inokulum korištene su spore crnog tartufa i ljetnog tartufa. Crni tartuf i ljetni tartuf naše su autohtone vrste tartufa te su za ovaj projekt pribavljeni isključivo s područja Hrvatske. Pri zaprimanju tartufa, plodišta su očišćena, sterilizirana i narezana na ploške, zatim osušena 24 sata na temperaturi od 35 °C, vakumirana i naposljetku pohranjena u hladnoj komori na 1-4 °C do trenutka inokulacije. Također, pri obradi plodišta uzet je uzorak za DNA barkodiranje. Zrelost spora ustanovili smo mikroskopskom provjerom glebe plodišta na svjetlosnom mikroskopu Leica DM3000 LED (Slike 3 i 4).



U ovom pokusu korištene su dvije metode inokulacije, a to su (i) dodavanje spora u praškastom obliku u supstrat te (ii) injektiranje vodene smjese sa sporama u supstrat. Supstrat za inokulaciju je kombinacija fliša, treseta i vermikulita (pH = 7,1 - 7,3). Fliš je dostavljen s područja Istre, a treset je tzv. „litvanski treset“ koji se koristi u rasadničkoj proizvodnji Hrvatskog šumarskog instituta. Sterilizacija potrebnog supstrata (bez vermikulita) odrađena je u sušionicima u kojima je temperatura supstrata dostigla između 70 °C i 80 °C, u trajanju od 4 sata, što je dovoljno za uklanjanje sjemena većine korovskih vrsta, svih biljnih patogenih bakterija i većinu biljnih virusa.

Kao mineralno gnojivo koristili smo spororastapajuće granule Osmocote Exact 12-14 M, trajnosti 12 do 14 mjeseci. Na trajnost Osmocote Exacta utječe temperatura, a ona je određena pri 21 °C. Što je temperatura niža, oslobađanje hranjivih tvari je sporije i obrnuto. Spororastapajuće granule kontrolirano otpuštaju sve osnovne mikroelemente: N (15%), P (9%), K (11%), Fe, B, Cu, Mg, Mn i Mo (ICL, 2022). Mineralno gnojivo je korišteno u različitim količinama, a dio kontrolnih biljaka presađen je u supstrat bez mineralnog gnojiva. Osim toga, pri inokulaciji je korištena i fulvinska kiselina koja potpomaže vitalnost biljke i razvijenost korijenskog sustava.

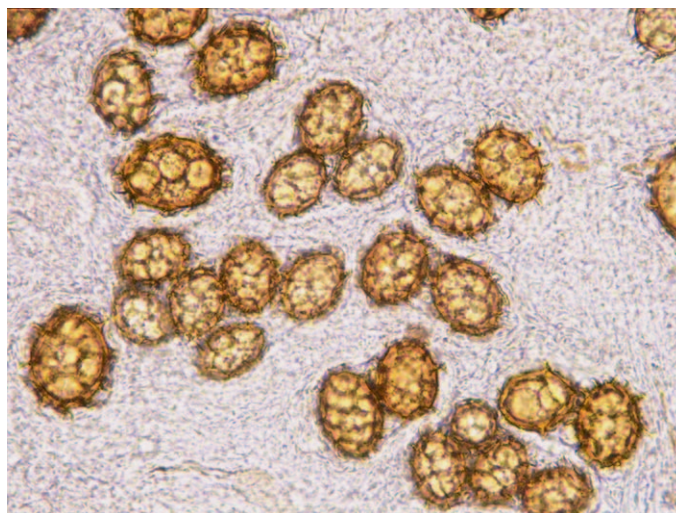
Projekt inokulacije provodi se u stakleniku Hrvatskog šumarskog instituta u Jastrebarskom. Staklenik je prije početka projekta očišćen i steriliziran radi smanjenja kontaminacije drugim, neželjenim sporama. Krov staklenika ima mogućnost automatskog otvaranja i zatvaranja čime se regulira temperatura i vrši prozračivanje stakleničkog prostora. S obzirom da je lokalna voda alkalna, postavljeni su filteri s aktivnim ugljenom radi uklanjanja klor. Prostor staklenika povezan je s Laboratorijem za kulturu tkiva u kojem se obavlja dio pripreme za proces inokulacije (npr. priprema inokuluma, precizno vaganje, mikropipetiranje).



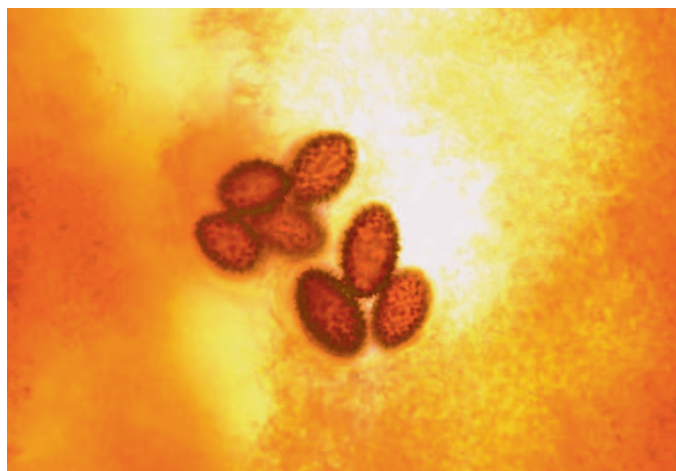
Slika 1. 'Bosnaplast' kontejner s posađenim žirovima (Autor: A. Brenko)



Slika 2. Stiroporni kontejner korišten za naklijavanje (Izvor: www.plastform.hr)



Slika 3. *T. aestivum* – zrele spore (Autor: I. Zegnal)



Slika 4. *T. melanosporum* - zrele spore (Autor: I. Zegnal)



Slika 5. Prerez plodišta ljetnog tartufa - gleba (Autor: I. Zegnal)



Slika 6. Klijanac starosti dva mjeseca s dobro razvijenim postranim korijenjem. (Autor: I. Zegnal)

## REZULTATI

Nakon što su klijanci razvili nadzemni dio s jednim do dva para pravih listova i postrano korijenje (Slika 6), krenulo se s inokulacijom. Prema testu klijavosti, ista je iznosila 58%, pa uzimajući u obzir tu brojku s brojem deformiranih ili oštećenih klijanaca, ukupno je inokulirano 1 320 klijanaca crnike (Tablica 1). Presađeno je i 240 biljaka bez inokuluma (kontrolne biljke), s različitim dozama mineralnog gnojiva, iz različitih kontejnera za naklijavanje, a u svrhu kontrole razlika razvoja sadnica sa i bez inokuluma.

Pokus inokulacije postavljen je u 19 različitih tretmana, a svaki tretman zastupljen je s deset varijabli: vrsta tartufa, vrsta biljke domaćina, datum inokulacije, vrsta supstrata, količina mineralnog gnojiva, metoda inokulacije, datum sađenja žira, datum premještanja kontejnera za naklijavanje u staklenik, vrsta posude za naklijavanje i metoda skladištenja tartufa. Kombinacijom različitih varijabli biti ćemo u mogućnosti utvrditi s kojom kombinacijom smo postigli bolji rezultat, odnosno veći stupanj mikorizacije.

Zbog privremenog skladištenja posađenog žira u hladnoj komori, datum sađenja žira i datum početka klijanja žira nisu iste varijable. Isto tako, sadnja žira odrađena je u

Tablica 2. Opis varijabli korištenih za postavljanje pokusa inokulacije.

VARIJABLA	OPIS VARIJABLE
Vrsta tartufa	<i>Tuber melanosporum</i> i <i>Tuber aestivum</i>
Biljka domaćin	<i>Quercus ilex</i>
Datum inokulacije	Datum kada je izvršena inokulacija
Omjer supstrata	Omjer treseta, fliša, vermikulita i vode u supstratu za inokulaciju
Mineralno gnojivo	Količina mineralnog gnojiva korištenog prilikom inokulacije – 5, 3, 1 i 0 g/l supstrata
Datum sadnje žira	Datum kada je žir posađen u supstrat za naklijavanje
Datum početka naklijavanja	Datum premještanja žira u staklenik s visokom temperaturom zraka smatra se datumom početka naklijavanja
Kontejner za naklijavanje	Kombinirani kontejneri s 33 sadna mjesta i stiroporni kontejneri
Način čuvanja spora	Način sušenja i skladištenja spora u hladnoj komori
Broj inokuliranih sadnica	Ukupan broj inokuliranih sadnica djeljiv sa 60

Tablica 1. Broj posađenih žirova, klijavost žira, broj oštećenih sadnica prilikom presađenja, broj ukupno inokuliranih biljaka i broj biljaka kontrolnih skupina.

Ukupan broj žirova	Klijavost žira	Oštećenih sadnica	Ukupno inokulirano	Kontrolnih biljaka
3128	58%	254	1320	240



siječnju i veljači, dakle u dva navrata. Da bi pravilnije planirali vrijeme klijanja i inokulacije, skladištenje žira u hladnoj komori je preporučljivo. Klijanci u "Bosnaplast" kontejnerima razvili su zdraviji i pravilniji korijen negoli u stiropornim kontejnerima. Glavni nedostatak stiropornih kontejnera je pojava prorastanja korijena kroz stiropor, vjerojatno zbog nedostatka zračnog podrezivanja (Slika 7).

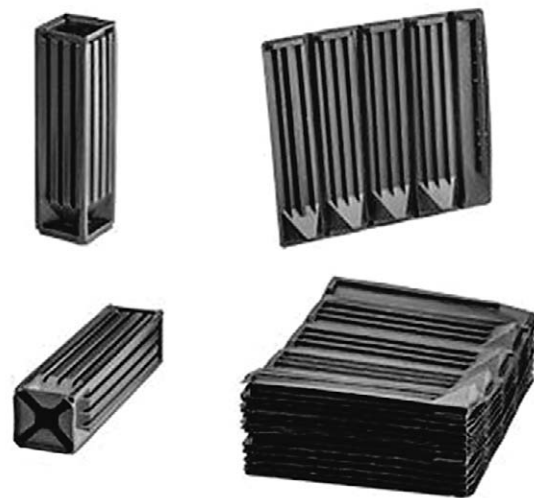


Slika 7. S lijeva na desno - dva klijanca iz stiropornog kontejnera, jedan klijanac iz 'Bosnaplast' kontejnera. (Autor: I. Zegnal). Na slici je vidljiv nepravilan rast korijenja kod klijanaca iz stiropornog kontejnera. Kod prvog klijanca došlo je do prorastanja stiropora, a kod drugog do pucanja korijena prilikom presađnje. Klijanac s pravilnim korijenom rastao je u "Bosnaplastu". Svi klijanci posađeni su i presađivani u isto vrijeme, a jedino je treći klijanac išao u proces inokulacije.

Inokulacija je postupak u kojem se spore smještaju u zonu korijena, a metode inokulacije razlikuju se u tome jesu li spore dodane prije ili nakon presađivanja biljke u supstrat. Iako je korištena ista vrsta supstrata za sve biljke, supstrat je ključni čimbenik pokusa jer biljka mora preživjeti i do godinu dana u njemu. Važnost sterilizacije supstrata ogleda se u tome što je fiziologija tartufa takva da su oni manje konkurentni u odnosu na ostale ektomikorizne (EM) gljive. Jedna od EM gljiva je *Sphaerospora brunnea* koja se često nalazi kao kontaminant u rasadnicima za šumsku proizvodnju te može postati problem jer se natječe u rizosferi s drugim EM gljivama, kao što su tartufi. Također, tresetna mahovina prepoznata je kao vektor širenja dviju egzotičnih EM gljiva, a to su *Suillus brevipes* i *Telephora terrestris* (Angeles-Argaiz i sur. 2018). Kvaliteta inokuliranih sadnica ne ovisi samo o stupnju mikorizacije, već i o vegetativnoj kakvoći te sadnice (Fischer & Colinas 1996), što se postiže pravilnom prihranom. Mineralno gnojivo je korišteno u svim tretmanima inokulacije, no u različitoj količini (Tablica 2). Prema istraživanju provedenom u Španjolskoj (García-Barreda i sur., 2016), prihrana je povećala masu biljke domaćina bez značajnog štetnog učinka na mikoriznu kolonizaciju.

Za inokulaciju se koriste pojedinačni Fullpot sklopivi kontejneri zapremnine 450 cm<sup>3</sup> (Slika 8). Prednost sklopivih kontejnera jest mogućnost provjeravanja vlage supstrata te mikroskopiranje mikorize bez da se korijen sadnica ošteti na način da se kontejner jednostavno otvori. Radi lakše manipulacije Fullpot kontejnerima nakon izvršene inokulacije, odnosno radi lakšeg premještanja biljaka, iste su postavljene u rešetkaste kašete za voće u koje stane 60 kontejnera. Shodno tomu, svaki tretman predstavljen je s po minimalno 60 biljaka (Tablica 2).

Svaki je pokus inokulacije numeriran jedinstvenim kodom koji predstavlja različitu kombinaciju pokusa iz Tablice 2. Kod se sastoji od početne riječi LOT koja se nastavlja s oznakom godine u kojoj je inokulacija izvršena (dvije znamenke), a završava brojem kombinacije 01, 02, 03, itd. Takav jedinstveni kod izgleda ovako: LOT2201 – LOT2223 (19 pokusa inokulacije i 4 kontrolne skupine). Svaki je različiti tretman s jedinstvenom šifrom spremljen u Excel tablicu, dok je svakoj kašeti s jedinstvenom kombinacijom dodijeljen QR kod u svrhu lakšeg raspoznavanja tretmana u stakleniku.



Slika 8. Fullpot kontejner (Izvor: [www.arnabatagricola.com](http://www.arnabatagricola.com))

## RASPRAVA

Svrha pokusa je pronaći optimalnu metodu inokulacije sadnica koja će uzeti u obzir financijsku i vremensku isplativost za različite scenarije korištenja: (i) proizvodnja inokuliranih biljaka za podizanje plantaža, (ii) proizvodnja inokuliranih biljaka za potrebe pošumljavanja i rekuperacije degradiranih staništa, te (iii) proizvodnja inokuliranih biljaka za slobodnu prodaju.

Svaki od navedenih scenarija korištenja inokuliranih biljaka podrazumijeva razvijen protokol inokulacije, edukaciju korisnika i prilagođene zakonske akte vezane uz primarnu poljoprivrednu proizvodnju te proizvodnju, sakupljanje i korištenje nedrvnih šumskih proizvoda.

S proizvodnjom inokuliranih sadnica započelo se zbog pada prirodne proizvodnje. Eksploatacija šuma, klimatske promjene te gospodarenje šumama u izričitu svrhu pridobivanja drvene mase utjecala su na potrebu plantažne proizvodnje tartufa, koje je postala moguća razvojem poljoprivredne mehanizacije. Najveći proizvođač crnih tartufa je Španjolska koja je u razdoblju 2013. – 2018. godine proizvela 47 tona crnih tartufa na godinu na ukupno 20 000 ha plantaža (Oliach i sur., 2021). U istome je razdoblju u Francuskoj proizvedeno 43 tona, a u Italiji 19 tona crnih tartufa na godinu. U posljednjem je desetljeću cijena crnih tartufa na europskom tržištu varirala između 2 000 €/kg i 4 000 €/kg (Oliach i dr. 2021). Ne treba zanemariti činjenicu da je plantažni uzgoj tartufa u zemljama zapadne Europe razvijen već nekoliko desetljeća te da se na starijim plantažama može očekivati veći prinos. Neovisna studija Hrvatskog šumarskog instituta provedena u svibnju 2022. godine pokazala je kako podizanje jednog hektara plantaže košta oko 280 000 kn, plodonošenje počinje u petoj godini, povrat investicije je u desetoj godini uz srednju otkupnu cijenu tartufa 2 000 kn/kg, dok u puni urod plantaža ulazi u jedanaestoj godini. Dakako, urod plantaže ovisan je i o vrstama inokuliranih biljaka te vremenskim prilikama. Povećavanjem površine plantaže neki se troškovi mogu smanjiti, no povrat investicije se i dalje očekuje oko desete godine, dok je zarada od prinosa tartufa svake iduće godine višestruko veća, pod

uvjetom stabilnih vremenskih prilika i stabilnog tržišta. U plantažama tartufa se mogu uzgajati i medonosne i ljekovite vrste biljaka koje će plantaži dati dodanu vrijednost, ali i mogućnost korištenja u znanstveno-edukativne i turističke svrhe. Takav sustav korištenja zemljišta u kojem se drveće i/ili grmlje namjerno koristi na istoj površini kao i poljoprivredne kulture (drvenaste ili ne) naziva se poljošumarstvo ili agro-silvikultura (eng. agroforestry). U poljošumarskim sustavima postoje i ekološke i ekonomske interakcije između različitih sastavnica (Mosquera-Losada i dr. 2009). Pa tako npr., na plantaži tartufa, moguće je uzgajati lavandu koja je endomikorizna vrsta i kao takva ne podržava ektomikorizu koja može naštetiti tartufima, a u isto vrijeme je ljekovita i medonosna. Bušinovke (*Cistus* spp.) su također poželjne vrste jer podržavaju razvoj i povezivanje micelija tartufa. Gljive, uključujući tartufe, najvažniji su nedrvni šumski proizvod u Europi. Njihova upotreba zabilježena je u 15 od 27 europskih zemalja, a slijede ih voće i bobičasto voće (Mosquera-Losada i dr. 2009).

Pošumljavanje inokuliranim sadnicama u svrhu rekuperacije degradiranih i/ili opožarenih staništa također ima svoje prednosti: (i) u slučaju opožarenih površina, nije potrebno vršiti zamjenu vrsta u npr., pionirske vrste, već se sukcesija vrsta može prirodno nastaviti, (ii) na požarištima, ovisno o stupnju požara, sagorijevaju organska hranjiva. Mikorizirane

Tablica 3. Tartufi i njihovi prirodni simbioti (Izvor: Bencivenga i Baciarelli Falini, 2012)

TARTUFI	<i>Quercus pubescens</i> Willd.	<i>Quercus ilex</i> L.	<i>Quercus cerris</i> L.	<i>Quercus robur</i> L.	<i>Corylus avellana</i> L.	<i>Ostrya carpinifolia</i> Scop.	<i>Carpinus betulus</i> L.	<i>Tilia</i> sp.	<i>Pinus pinea</i> L.	<i>Pinus halepensis</i> Mill.	<i>Fagus sylvatica</i> L.	<i>Cistus incanus</i> L.	<i>Populus</i> sp.	<i>Salix</i> sp.
<i>T. magnatum</i>	•			•	•		•	•					•	•
<i>T. borchii</i>	•	•			•	•			•	•				
<i>T. melanosporum</i>	•	•			•	•						•		
<i>T. aestivum</i>	•	•	•	•	•	•		•	•	•		•		
<i>T. aest. var. uncinatum</i>	•		•		•		•	•			•			
<i>T. brumale</i>	•	•			•	•		•						
<i>T. macrosporum</i>	•		•	•	•	•	•	•					•	
<i>T. mesentericum</i>	•			•	•		•	•						

biljke imaju veću apsorpciju mikroelemenata, pa je i stupanj preživljavanja takvih sadnica veći, (iii) zbog rasporeda sadnje inokuliranih sadnica i zbog održavanja prizemnog sloja rašća, čest je slučaj da se pošumljavanje mikoriziranih sadnica vrši uz rubove šuma osjetljivih na požar te uz rubove naselja. Takve biljke nisu otpornije na požar, ali se zbog načina sadnje požar lakše suzbija i/ili drži pod kontrolom, te (iv) zbog boljeg rasta i prirasta, brže se razvija i korijen, što je od iznimne važnosti kod površina degradiranih erozijom.

Proizvodnja sadnica za slobodnu prodaju ovisna je o potrebama tržišta. Drugim riječima, prije planiranja proizvodnje potrebna je detaljna analiza tržišta i potencijal prodaje. Za proizvodnju mikoriziranih sadnica se kao inokulum najčešće koriste spore crnog tartufa i ljetnog tartufa. Iz grupe crnih tartufa koriste se i spore tamnog ljetnog tartufa (*Tuber aestivum* var. *uncinatum* (Chatin) I.R. Hall, P.K. Buchanan, Wang & Cole) i zimskog tartufa (*Tuber brumale* Vittad.), dok su metode korištenja spora bijelih tartufa, npr. velikog bijelog tartufa (*Tuber magnatum* Pico.), još uvijek nedovoljno istražene i nemaju znanstvenu osnovu. Dakle, učestala je praksa da se kao inokulum koriste spore tartufa koje imaju veću komercijalnu vrijednost, što ne znači da inokulacija nije moguća i s ostalim vrstama tartufa. Među gospodarskim vrstama drveća tartufi mikorizu stvaraju s hrastovima, topolama, vrbama, bukva, lipama, borovima, kestenima, lijeskama, grabovima i dr., dok se za inokulaciju najčešće koriste hrastovi i to crnika (*Quercus ilex*), oštika (*Quercus coccifera*), medunac (*Quercus pubescens*), cer (*Quercus cerris*), zatim lijeska (*Corylus spp.*), grab (*Carpinus betulus*), te alepski bor (*Pinus halepensis*). Kombinacija vrste tartufa i vrste drveća (Tablica 3) ovisi o specifičnim ekološkim uvjetima vrsta s obzirom na ekološke uvjete ciljnog staništa. Navedene su vrste koje uspijevaju u našem podneblju, dok je u drugim zemljama moguće koristiti i vrste drveća koje bolje uspijevaju u klimatskim uvjetima njihovih podneblja, kao npr. portugalski hrast (*Quercus faginea* Lam.) u Španjolskoj.

## ZAKLJUČAK

Projektom kontroliranog naklijavanja i inokulacije testiralo se više čimbenika bitnih za planiranje i razvoj inokulacije. Brojem posađenih žirova u kombinaciji s testom klijavosti možemo predvidjeti broj razvijenih biljaka potrebnih za inokulaciju. U daljnjim istraživanjima preporuča se tretiranje žirova malom dozom fungicida u svrhu povećanja postotka klijavosti i istraživanja utjecaja fungicida na razvoj inokulacije. Čuvanjem žireva u hladnoj komori unutar supstrata za naklijavanje i izvan supstrata dokazana je mogućnost odgode naklijavanja kao element dodatnog planiranja i raspoređivanja aktivnosti vezanih uz naklijavanje. Pod pretpostavkom lakšeg manipuliranja žireva u supstratu i manipulacije sadnicama, sadnja žirova u stiropornim

kontejnerima ne preporuča se kod biljaka s izraženom žilom srčanicom, nedostatka zračnog podrezivanja, zadržavanja vlage na dnu kontejnera i truljenja korijena kao i zbog nemogućnosti pravilnog razvoja korijena.

Različitim metodama inokulacije testirala se količina inokuluma (grama po sadnici) potrebnog za uspješnu inokulaciju, čime se može unaprijed odrediti trošak pribavljanja svježih mikoriznih gljiva. Nadalje, uspjehom pojedine metode inokulacije moći će se odrediti zahtjevnost poslova inokulacije, odnosno planiranje utroška radniko/mjeseci za inokulaciju, budući da razlike u načinu inokulacije impliciraju i različitu fizičku aktivnost radnika te vrijeme potrebno za inokulaciju.

Devetnaest različitih pokusa inokulacije pokazati će najoptimalniji način proizvodnje mikoriziranih biljaka za različite svrhe/mogućnosti njihove uporabe. Pronalaženje najoptimalnije metode koristiti će kod repliciranja pokusa s većom opterećenošću poslova u svrhu primjene na ruralnim gospodarstvima i praktičnom šumarstvu.

Širenje istraživanja inokulacije na biljke domaće od lokalnog interesa (*Quercus pubescens*, *Q. cerris*, *Carpinus betulus*, *C. orientalis*, *Tilia spp.*, *Pinus halepensis*) uključivati će testiranje i manje uspješnih metoda inokulacije u svrhu utvrđivanja razlika u odnosu biljka domaćin – gljiva, ali otvara i mogućnost pokusa inokulacije s presadnicama kod kojih je vegetativno razmnožavanje već otprije pokazano uspješnim, npr. kod primjene u hortikulturi zbog mogućnosti veće prijemljivosti i snažnijeg razvoja mikoriziranih biljaka.

## SUKOB INTERESA

Autori nemaju sukob interesa za prijaviti.

## LITERATURA

Bencivenga, M., Baciarelli Falini, L., 2012. Manuale di tartuficoltura – Esperienze di coltivazione dei tartufi in Umbria. Regione Umbria i Università Degli Studi Di Perugia.

Chevalier, G., 2010. Truffes et trufficulture en Europe. 3<sup>e</sup> Congresso internazionale di Spoleto sul tartufo, Comunità Montana dei Monti Martani, Serano e Subasio, str. 65-72.

Fischer, C.R., Colinas, C., 1996. Methodology for certification of *Quercus ilex* seedlings inoculated with *Tuber melanosporum* for commercial application. In: Abstracts booklet of "1st International Conference on Mycorrhizae (ICOM1)" (Szaro TM, Bruns TD eds). Berkeley (California, USA) 4-9 Aug 1996. University of California, Berkeley, California, USA, p 34.

Garcia-Barreda, S., Molina-Grau, S., Reyna, S., 2016. Fertilisation of *Quercus* seedlings inoculated with *Tuber melanosporum*: effects on growth and mycorrhization of two host species and two inoculation methods. iForest (early view). – doi: 10.3832/ifor2096-009



Gradečki – Poštenjak, M., Novak Agbaba, S., Čelepirović, N., Posarić, D., 2018. Kvalitativne osobine žira hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) iz Spačvanskog bazena i posljedice njegovog neodgovarajućeg skladištenja. Radovi (Hrvat. Šumar. inst.) 46 (1): 39-51.

ICL Specialty Fertilizers, 2022. Gnojiva s omotačem. Posjećeno 26.05.2022. na mrežnoj stranici ICL: [https://icl-sf.com/hr-hr/products/ornamental\\_horticulture/8843-osmocote-exact-standard-12-14m/](https://icl-sf.com/hr-hr/products/ornamental_horticulture/8843-osmocote-exact-standard-12-14m/)

Mosquera-Losada, M.R., McAdam, J.H., Romero-Franco, R., Santiago-Freijanes, J., Rigueiro-Rodríguez, A., 2009. Definitions and Components of Agroforestry Practices in Europe. In: Rigueiro-Rodríguez, A., McAdam, J., Mosquera-Losada, M.R. (eds) Agroforestry in Europe. Advances in Agroforestry, vol 6. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8272-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8272-6_1)

Oliach, D., Vidale, E., Brenko, A., Marois, O., Andrighetto, N., Stara, K., Martínez de Aragon, J., Colinas, C., Bonet, J.A., 2021. Truffle Market Evolution: An Application of the Delphi Method. Forests 2021, 12, 1174. <https://doi.org/10.3390/f12091174>

Samils, N., Olivera, A., Danell, E., Alexander, S.J., Fischer, C., Colinas, C., 2008. The Socioeconomic impact of Truffle Cultivation in Rural Spain. Economic botany, 62(3), str. 331-340.



## **CONTROLLED GERMINATION AND INOCULATION OF HOLM OAK (*Quercus ilex* L.) with two species of the genus *Tuber***

### **SUMMARY**

Truffles (genus *Tuber*) are hypogeous mushrooms that are intensively cultivated due to their gastronomic value and the decline of natural production. Modern truffle cultivation is based on planting inoculated seedlings on suitable soils of appropriate ecological conditions to complete the life cycle of the fungus. The purpose of the research is to find the optimal inoculation method that will ensure a satisfactory degree of mycorrhization. Holm oak was chosen as the host plant because it is a natural symbiont of black and summer truffles, our indigenous specie and ecologically suitable for the habitat of planned plantations. The use of inoculated seedlings with truffle mycelium is very wide, such as raising plantations, reforestation and recuperation of degraded habitats or their free sale. The research tested three methods of storage and germination of acorns, two methods of inoculation (inoculation with substrate and inoculation by injection into substrate) with different doses of mineral fertilizer and different treatments with fulvic acid. 19 different experiments were set up with a total of 1 320 holm oak seedlings inoculated with two species of the genus *Tuber*, black truffle (*Tuber melanosporum* (Vittad.)) and summer truffle (*Tuber aestivum* (Wulfen) Spreng.)).

**Keywords:** black truffle, summer truffle, mycorrhiza, plantations, reforestation, agro-forestry, non-wood forest products