

UDK: 635.85(497.11)

Pregledni rad *Review paper*

BIOLOGIJA I UZGOJ TARTUFA U SVETU I SRBIJI

**Marina Katanić¹, Miroslav Marković¹, Predrag Pap¹, Milica Zlatković¹,
Saša Pekeč¹, Branislav Kovačević¹**

Izvod: U radu je dat pregled rezultata dosadašnjih istraživanja vezanih za biologiju, ekologiju i uzgoj tartufa u svetu, sa posebnim osvrtom na stanje u Srbiji. Tartufi su ektomikorizne gljive prevashodno iz roda *Tuber* (Ascomycota: Pezizales) koje obrazuju podzemna plodna tela. Ukoliko ne stupe u simbiozu sa korenima biljaka tartufi ne obrazuju plodna tela. Brojni ekološki faktori (klima, karakteristike zemljišta i sastav vegetacije) moraju biti zadovoljeni za njihov život i razmnožavanje. Mirisna isparljiva organska jedinjenja emituju kako bi privukli slobodno-živeće organizme kao što su insekti i miševi koji služe kao vektori za rasejavanje tartufa. Tartufi koriste isparljive signalne molekule tokom svog životnog ciklusa kako bi regulisali interakcije sa mikroorganizmima i korenjem biljaka. Najšire gajena vrsta tartufa na svetu je *T. melanosporum*, dok je *T. aestivum* na drugom mestu. Biljke kolonizovane tartufima se proizvode obično inokulacijom sporama specifične vrste. Preporučuje se sadnja biljaka sa visokim stepenom kolonizacije tartufima kako bi se povećala šansa za proizvodnju tartufa u plantaži. Neophodno je da se, prilikom zasnivanja zasada mikoriziranih biljaka, koriste lokalni genetički resursi. Kako bi se sačuvala prirodne populacije tartufa u Evropi trebalo bi premestiti fokus sa traženja tartufa u prirodi na zasnivanje plantaža sa mikoriziranim biljkama.

Ključne reči: *Tuber*, ektomikoriza, inokulacija, uzgajanje, biologija, ekologija

BIOLOGY AND CULTIVATION OF TRUFFLES IN THE WORLD AND IN SERBIA

Abstract: The aim of this paper was to provide an overview of the recent research concerning truffle biology, ecology and cultivation in Serbia and worldwide. Truffles are ectomycorrhizal fungi, primarily from the genus *Tuber* (Ascomycota:

¹ dr Marina Katanić, naučni saradnik, dr Miroslav Marković, naučni saradnik, dr Predrag Pap, naučni saradnik, dr Milica Zlatković istraživač saradnik, dr Saša Pekeč, viši naučni saradnik, dr Branislav Kovačević, viši naučni saradnik - Univerzitet u Novom Sadu, Institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Antona Čehova 13d, 21000 Novi Sad, e-mail: katanicm@uns.ac.rs

¹ dr Marina Katanić, research associate, dr Miroslav Marković, research associate, dr Predrag Pap, research associate, dr Milica Zlatković, research assistant, dr Saša Pekeč, senior research associate, dr Branislav Kovačević, senior research associate – University of Novi Sad, Institute of Lowland Forestry and Environment, Antona Čehova 13d, 21000 Novi Sad, e-mail: katanicm@uns.ac.rs

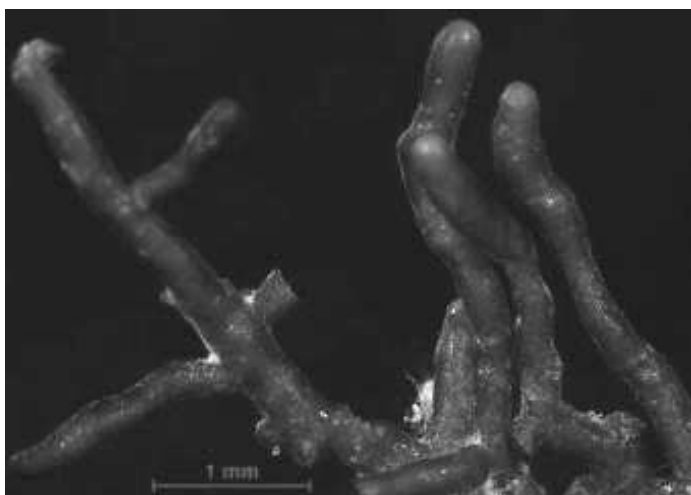
Pezizales) which form underground fruiting bodies. Unless they form a symbiotic relationship with plant roots, truffles do not produce fruiting bodies. Survival and reproductive success of truffles is affected by numerous ecological factors (climate, soil characteristics and vegetation). They emit aromatic volatile organic compounds to attract free living organisms such as insects and mice that serve as vectors for truffle dispersal. Truffles use volatile signaling molecules throughout their life cycle to regulate interactions with microorganisms and plant roots. The most cultivated species of truffles in the world is the species *T. melanosporum*, followed by *T. aestivum*. Inoculation with spores is the most common method for production of plants colonized with truffle mycorrhizas. It is recommended to plant seedlings with a high degree of truffle colonization in order to increase the production of fruiting bodies in plantation. Truffle plantations should be established using local genetic resources. In order to preserve natural truffle populations in Europe, the focus should be shifted from searching for truffles in nature to the establishment of plantations with mycorrhized seedlings.

Keywords: *Tuber*, mycorrhiza, inoculation, cultivation, biology, ecology

UVOD

Tartufi su gljive koje žive u simbiotskoj zajednici sa korenjem određenih vrsta drveća i obrazuju podzemna (hipogeična) plodna tela (Slika 1.). "Pravi" tartufi spadaju u razdeo Ascomycota (carstvo Fungi, domen Eukaryota), prvenstveno u rod *Tuber*, dok su "lažni" tartufi pripadnici razdela Basidiomycota (Berch, 2013). Većina komercijalnih tartufa su pripadnici roda *Tuber*. Bonito et al. (2010) su predvideli da je broj vrsta ovog roda na globalnom nivou oko 180-230. Ipak, samo 30-tak vrsta tartufa i pseudo tartufa ima komercijalnu vrednost od kojih su komercijalno najvrednije evropske vrste *Tuber magnatum* Pico, *Tuber melanosporum* Vittad., *Tuber aestivum* Vittad. i *Tuber borchii* Vittad. (Hall et al., 2007).

Tartufi se generalno smatraju delikatesnom i luksuznom hranom kojoj se pripisuju afrodizijačka svojstva. S obzirom na cenu *T. magnatum-a* u 2004. godini od 300-400 evra za 100 g, potpuno je razumljivo da je ovo jedan od najskupljih delikatesa na svetu po čemu je u rangu sa kavijarom (Mello et al., 2006).



Slika 1. Ektomikoriza vrste *Tuber rufum* (foto Katanić, 2010)

Picture 1. Ectomycorrhiza of *Tuber rufum* (photo Katanić, 2010)

Tartuf prolazi kroz kompleksan životni ciklus tokom koga micelija stupa u ektomikorizu sa korenjem određenih vrsta drveća i žbunja. U krajnjoj fazi ciklusa dolazi do agregacije hifa i razvoja plodnog tela tartufa koje sadrži askuse u kojima mejozom nastaju askospore (Slike 2. i 3.). Pravi tartufi spadaju u rod *Tuber*, međutim i neke druge vrste Ascomycota se smatraju tartufima kao što su pustinski tartufi koji dominiraju u sušnim ekosistemima Afrike (Mello et al., 2006). U pustinske tartufe spadaju rodovi *Terfezia* i *Tirmania* i oni nemaju tako intenzivnu aromu kao vrste iz roda *Tuber*. Pronalaze se prepoznavanjem karakterističnih pukotina koje se formiraju u zemljištu direktno iznad njih i tradicionalno obezbeđuju preko potrebnu hranu ljudima koji žive u surovim aridnim uslovima (Berch, 2013).

Poznavaoči hrane opisuju njihov miris kao senzualan, zavodljiv i jedinstven. Mirisna jedinjenja imaju ulogu da privuku sisare i insekte koji su u stanju da lociraju ove dragocene gljive ispod zemlje i da rašire njihove spore (Patel, 2012). Ukoliko ne uđu u simbiozu sa korenjem biljaka i ne zasnuju ektomikorizu, tartufi ne obrazuju plodna tela. Takođe, plodna tela neće raširiti svoje spore ukoliko ih ne pojedu insekti ili sisari. Tartufi koriste isparljive signalne molekule tokom životnog ciklusa kako bi regulisali svoje interakcije sa mikroorganizmima i korenjem biljaka. U toku različitih faza svog životnog ciklusa oni otpuštaju specifična jedinjenja da bi stupili u interakciju sa određenim organizmima (Splivallo et al., 2011). Pored toga što su gastronomski delikates širom sveta zahvaljujući mirisnim jedinjenjima, u poslednje vreme je otkriveno da tartufi sadrže i jedinjenja sa antioksidantnim, imunosupresorskim, antimikrobnim i antikancerogenim svojstvima (Splivallo et al., 2011).



Slika 2. Plodna tela vrste *Tuber aestivum*

(foto Katanić, 2017)

Picture 2. *Fruting bodies of Tuber aestivum*
(photo Katanić, 2017)



Slika 3. Spore vrste *Tuber aestivum*
(foto Katanić, 2017)

Picture 3. *Spores of Tuber aestivum* (photo
Katanić, 2017)

Poreklo reči tartuf potiče od lat. *tuber* što ukazuje na loptast oblik njegovih plodnih tela. U naučnom žargonu termin tartuf se odnosi na hipogeične gljive iz razdela Ascomycota koje obrazuju ektomikorizu sa korenjem skrivenosemenica i golosemenica. Generalno tartufi formiraju dugotrajnu simbiozu sa mnogim biljnim vrstama: hrastom, topolom, brestom, bukvom, kestenom, vrbom, brezom, lešnjikom, jelom i borom (Patel, 2012).

Na papirusu je dokumentovano da su još u Doba faraona najviši slojevi društva: bogati i poznati, uživali u ukusu tartufa. Poznavali su ih još starogrčki i rimski filozofi, pisci i vladari. Teofrast, Aristotelov učenik je 500 pre n.e. opisao tartufe kao “prirodni fenomen velike kompleksnosti, jednu od najčudnijih biljaka bez korena, stabla, vlakana, grana, pupoljaka, lišća ili cvetova”. Veliki rimski državnik Ciceron ih je nazivao “sinovima zemlje”, a Plinije “čudom prirode” (Hrka, 1984; Patel, 2012). U srednjem veku se o tartufima znalo mnogo više. Proučavana je njihova biologija i ekologija, otkrivena je njihova simbiotska priroda, kao i spore. Od 18. veka jestivi tartufi su veoma poštovani u mnogim internacionalnim kuhinjama, a posebno u francuskoj, španskoj i italijanskoj. Organizovana potraga i eksploatacija tartufa su započete u Srednjoj i Južnoj Francuskoj (Perigord, Vaucluse) i Severnoj Italiji (Piemonte) u 19. veku. Učinjeni su i prvi koraci ka podizanju plantaža, doduše na primitivan način. Arapi takođe smatraju tartufe jednom od najstarijih vrsta hrane (Hrka, 1984; Patel, 2012).

Sveže iskopana plodna tela tartufa su aromatična, izborana i imaju izbrazdan izgled nalik krompiru. Vrste tartufa generalno se mogu razlikovati na osnovu njihovih plodnih tela i mikoriznih vrhova. Na osnovu plodnih tela dele se na crne i bele koji se razlikuju prema boji i površini peridijuma, boji mesa i obliku

spora. U bele tartufe spadaju vrste: *Tuber magnatum*, *T. maculatum*, *T. borchii*, *T. dryophilum*, *T. puberulum* i *T. rufum*; dok crnima pripadaju: *T. melanosporum*, *T. aestivum*, *T. brumale*, *T. mesentericum*, *T. macrosporum*, *T. indicum*, *T. himalayense* (Hrka, 1984). Evropa je region mnogih komercijalno važnih vrsta tartufa (Hall et al., 2007) među kojima u grupu komercijalnih crnih tartufa spadaju *Tuber melanosporum*, *T. aestivum*, *T. brumale*, *T. mesentericum* i *T. macrosporum*, dok u komercijalne bele tartufe spadaju *Tuber magnatum*, *T. borchii* i *T. dryophilum* (Berch, 2013). Beli tartuf, *T. magnatum*, je najčešće tražen i najcenjeniji, dok je aroma crnih tartufa manje oštra i podseća na svežu zemlju i pečurke, pa su oni jeftiniji na tržištu (Hrka, 1984).

Dok su *Tuber maculatum* i *T. borchii* nađeni širom Evrope, *T. melanosporum* je pronađen u Južnoj i Zapadnoj Evropi - Italiji, Francuskoj i Španiji, a plodna tela *T. magnatum*-a su do sada nađena u Italiji i Istočnoj Evropi - Hrvatskoj, Sloveniji, Mađarskoj (Mello et al., 2006) i Srbiji (Marjanović et al., 2009).

EKOLOŠKI USLOVI KOJE ZAHTEVAJU TARTUFI

Tartufi su veoma izbirljivi po pitanju ekoloških uslova, te stoga brojni faktori moraju biti odgovarajući da bi oni živeli i razmnožavali se (Hrka, 1984).

Uspevaju u umerenoj srednjeevropskoj i mediteranskoj klimi, međutim njihovo prisustvo i kultivacija su zabeleženi i znatno severnije, u Finskoj (Shamekh et al., 2014), Švedskoj (Wedén et al., 2004) i Estoniji (Otsing i Tedersoo, 2015). Za dobar rod tartufa presudni su odgovarajuća temperatura i količina vlage u zemljištu u periodu početka vegetacije (april, maj), kada tartufi počinju sa formiranjem i razvojem plodnih tela. Povremena kiša povoljno deluje na rast tartufa u toku dužeg sušnog perioda (Hrka, 1984). Prateći uticaj navodnjavanja (od režima bez navodnjavanja do intenzivnog) i tri perioda (proleće-rano leto, kasno leto-jesen i proleće-jesen), Olivera et al., (2014) su zapazili da je umereno navodnjavanje u periodu proleće-rano leto ili kasno leto-jesen imalo veći uticaj na mikorizu tartufa nego tretman bez navodnjavanja ili navodnjavanje tokom cele vegetacione sezone.

Ostali važni faktori za život i rast tartufa su geološka podloga, hemijski sastav i struktura zemljišta. Beli tartuf, *Tuber magnatum*, kao i ostali beli tartufi, uspevaju na krečnjačkim, svežim i dubljim glineno-ilovasto-peskovitim zemljištima ali se javlja i u aluvijalnim nanosima reka i potoka. *Tuber melanosporum* preferira zemljišta sa više krečnjaka, ali koja su propusna i sa izvesnim procentom glineno-ilovastih čestica koje zadržavaju više vlage (Hrka, 1984). Proučavajući fizička svojstva zemljišta koja utiču na fruktifikaciju "crnih tartufa" u plantažama Alonso Ponce et al., (2013) su utvrdili da visoka specifična gustina, sadržaj gline i kapacitet zadržavanja vode imaju pozitivan efekat.

Oranje se preporučuje u plantažama crnih tartufa radi suzbijanja korova i stimulisanja rasta korena biljaka naseljenih tartufima. Salerni et al., (2014) su utvrdili da oranje popravljja poroznost zemljišta i povećava kvantitet micelijuma belog tartufa, dok smanjuje ukupni diverzitet ektomikoriznih vrsta gljiva.

Letnji crni tartuf (*Tuber aestivum*) je najrasprostranjenija vrsta tartufa u Evropi, a njegova široka distribucija se prema Chevalier, (2009) može objasniti različitim faktorima. Njegovi potencijalni domaćini su dobro rasprostranjeni u celoj Evropi: lešnik, hrast, grab, bukva, lipa, topola, breza, jela, smrča, bor, kedar. Ovaj tartuf može da raste u zemljištima različitih fizičko-hemijskih karakteristika: od peskovitih ("lakših" zemljišta) do glinovitih ("težih" zemljišta) ili ilovastih zemljišta. Hemijski sastav tla se ne razlikuje od kultivisanih zemljišta, a može da raste u zemljištu bogatom organskom materijom. Zahteva minimalnu količinu kalcijuma, dok prisustvo kreča (CaCO_3) nije neophodno. *T. aestivum* zahteva okeansku, semi kontinentalnu ili kontinentalnu klimu sa dovoljno kiše u leto i ne previše niskim temperaturama u jesen. Zahteva više vode nego *T. melanosporum*. Genetička varijabilnost mu omogućava da se adaptira na različite ekosisteme i klimatske uslove (Chevalier, 2009).

U Karpatsko-Panonskoj regiji Bratek et al., (2010) nisu našli *T. aestivum* na područjima sa kiselim zemljištem, na područjima sa kiselim peskovitim zemljištem, na peskovitom zemljištu siromašnom vodom, kao ni na lesu. Više od dve trećine staništa ovog tartufa u Karpatskoj niziji su imala tešku glinovitu teksturu, petina su bile glina, dok su ostatak činile glinovita ilovača i ilovača, dok je pH bio generalno slabo alkalno, neutralan ili čak blago kiseo. Sadržaj humusa je ukazivao na balansirano snabdevanje humusom. Najveći broj zemljišta je sadržao malo (5-8%) ili samo tragove (0.1-5%) kreča. Poredeći vegetaciju na staništu ovog tartufa otkriveno je grupisanje na bazi drvenastih vrsta ukazujući na tri jasno različite grupe: u prvoj grupi je dominirao grab (*Carpinus betulus*), u drugoj hrast lužnjak (*Quercus robur*), a u trećoj cer (*Quercus cerris*).

DIVERZITET TARTUFA U SRBIJI

Prema Ivančeviću, (2016) dr Miroljub Milenković sa saradnicima je krajem 20. veka na Institutu za biološka istraživanja "Siniša Stanković" u Beogradu započeo istraživanja hipogeičnih gljiva uz pomoć dresiranih pasa i formirao studijsku zbirku podzemnih gljiva na kojoj su vršena dalja istraživanja. Prvi rezultati su bili zapis o pojavljivanju vrsta *T. aestivum* i *T. melanosporum* u Srbiji (Milenković et al., 1992). Glamočlija et al., (1997) su prvi put konstatovali prisutnost tartufa *Tuber macrosporum* Vitt. u Srbiji i potvrdili rane nalaze vrsta *T. melanosporum* Vitt., *T. aestivum* Vitt. i *T. magnatum* Pico ex Vitt na ovom prostoru.

Proučavajući molekularni diverzitet i ekološku specifičnost tartufa srednjeg i zapadnog Balkana (Srbija i delovi Crne Gore i Makedonije), Marjanović et al., (2009) su zabeležili 12 vrsta iz roda *Tuber*. Najšire rasprostranjen je bio *Tuber rufum* i imao je 5 varijeteta (var. *rufum* Pico, var. *apiculatum* E. Fisch.; var. *ferrugineum* (Vittad.) Montecchi & Lazzari; var. *lucidum* (Bonnet) Montecchi & Lazzari; var. *nitidum* (Vittad.) Montecchi & Lazzari). *Tuber excavatum* je takođe veoma rasprostranjena vrsta, vezana za određeno zemljište, dok je *Tuber aestivum* pronađen na celom istraživanom području na neutralnom ili slabo baznom zemljištu. *T. brumale* je bio najrasprostranjeniji tartuf u Srbiji i Crnoj Gori u kasnu jesen i zimu. *T. macrosporum* i *T. magnatum* su zabeleženi u nizijskim mešovitim šumama

u kojima dominiraju autohtone topole (*Populus alba* i *Populus nigra*), hrast i jasen. *T. mesentericum* je zabeležen u zemljištu sa vrlo visokim sadržajem CaCO_3 . *T. borchii*, *T. foetidum* i *T. maculatum* su bili retki, dok su *T. oligospermum* i *T. fulgens* prvi put nađeni na Balkanskom poluostvu. Svi komercijalno značajni tartufi su rasprostranjeni u Srbiji, dok *Tuber puberulum*, *T. dryophyllum* i *T. borchii* nisu nađeni tokom ovog istraživanja.

Prisutnost vrste *T. melanosporum* nije utvrđena u istraživanju Marjanović et al., (2009) iako je njegovo javljanje bilo ranije zabeleženo u Srbiji. Identifikacija pomenutih vrsta tartufa u istraživanjima Milenković et al., (1992) i Glamočlija et al., (1997) bila je izvršena samo morfološko-anatomskim metodama. Nakon što su Marjanović et al., (2009) napravili reviziju morfoloških i molekularnih karakteristika herbarskih kolekcija na kojima su prethodni autori uradili determinaciju, utvrdili su da je vrsta determinisana kao *T. melanosporum* zapravo *Tuber brumale* pa se stoga *T. melanosporum* ne može smatrati vrstom prisutnom u Srbiji.

U svojoj doktorskoj disertaciji Ivančević, (2016) je analizirao diverzitet i rasprostranjenost hipogeičnih gljiva u ekosistemima Srbije. Osim što je potvrđeno prisustvo svih vrsta tartufa koje su zabeležili Marjanović et al., (2009), nađen je i *T. puberulum*. Jedan od najvažnijih rezultata ove disertacije je otkriće nove vrste za nauku koja je nazvana *Tuber petrophilum*, nađena je do sada samo na Tari i filogenetski je bliska vrsti *T. brumale* (Milenković et al., 2016).

Diverzitet ektomikoriznih gljiva na topolama sa različitih lokaliteta je istraživao Katanić, (2014) u svojoj doktorskoj disertaciji. U plantaži bele topole na Oglednom dobru Instituta za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu (pored mesta Kač, 20 km od Novog Sada) Katanić et al., (2014) su zabeležili prisustvo *T. maculatum* i *T. rufum*. Ove dve vrste nađene su i u Koviljsko-Petrovaradinskom ritu (Katanić et al., 2015a). Na staništu zagađenom piritnom jalovinom u blizini reke Timok u jesen je zabeleženo prisustvo vrste *T. puberulum* (Katanić et al., 2011), dok na istom lokalitetu u leto sledeće godine nije bilo zabeleženih tartufa (Katanić et al., 2015b). Prilikom istraživanja diverziteta ektomikorize na bukvi sa četiri lokaliteta u Srbiji, Katanić et al., (2016) su zabeležili 36 različitih ektomikoriznih tipova, ali među njima nije bilo pripadnika roda *Tuber*.

NALAZENJE TARTUFA

Pojava kružnih zona sa oskudnom vegetacijom oko biljaka domaćina naseljenih nekim ektomikoriznim gljivama poznata je od davnina. Ova pojava se obično naziva francuskim terminom “*brûlé*” a kod nas “opekotina” i šire bi mogla biti tumačena kao alelopatični fenomen. Baziran je uglavnom na fitotoksičnim efektima metabolita nekih tartufa (tipično za *Tuber melanosporum*, *T. aestivum*, *T. indicum*) koji utiču na zeljasti pokrivač i korene biljaka domaćina. Iako je pojava “opekotina” znak da su tartufi aktivni u zemljištu ona ne garantuje prisustvo plodnih tela. Prve “*brûlé*” se pojavljuju kada je biljka mlađa od 2 godine, šire se svake godine i mogu rasti 10-15 godina zahvatajući područje koje se prostire i do 15-20m. Biljke domaćini koje brže rastu brže i obrazuju “*brûlé*” (Streiblová et al., 2012).

Tokom evolucije tartufi su bazirali rasejavanje na emitovanju jakog mirisa koji omogućava životinjama da lociraju njihova podzemna plodna tela. U tom kontekstu isparljiva organska jedinjenja imaju komplementarnu ulogu. Tartufi potiskuju vegetaciju unutar “*brûlé*” da bi označili svoju lokaciju na staništu i u isto vreme emituju isparljive signale kako bi privukli slobodno-žive organizme (na pr. divlje svinje, jelene, medvede, miševе, zečeve, insekte) koji služe kao vektori za rasejavanje tartufa (Streiblová et al., 2012).

U obrazovanju “opekotina” veliku ulogu imaju isparljiva organska jedinjenja. Postoje brojni dokazi da su micelija, mikorize i plodna tela tartufa koji obrazuju “*brûlé*” razvili difuzne metabolite za preživljavanje koji utiču štetno na korove, inhibirajući klijanje semenja, menjajući morfogenezu korena i hormonalni balans biljaka ili inhibirajući autohtonu rizosfernu mikrofloru vezanu sa opekotine (Streiblová et al., 2012).

Hrka, (1984) smatra da je tartufe najbolje tražiti uz pomoć dresiranog psa koji može da pronađe zreli tartuf na udaljenosti od 50 m, pa čak i više. Pas, kada nanjuši tartuf grebe zemlju iznad njega i na taj način otkriva gde se tartuf nalazi. Rasa *Logoto romanjolo* se smatra najboljom za traženje tartufa, ali se u tu svrhu mogu koristiti i prepeličari, labradori, ptičari, pudle, ovčari, kao i mešanci koji imaju dobar njuh. Iako ima dobar njuh svinja nije adekvatna za traženje tartufa jer se dešava da ga pojede. Prilikom iskopavanja tartufa treba voditi računa da se iskopa što manja rupa i da se ona nakon vađenja tartufa zatrpa zemljom kako bi se u najmanjoj meri povredio micelijum gljive i fini koreni (Hrka, 1984). Isti autor smatra da tartufe ne treba tražiti tamo gde se javljaju acidofilne biljne vrste kao što su pitomi kesten (*Castanea sativa*), velika žutilovka (*Genista tinctoria*), germanska žutilovka (*Genista germanica*), bujad (*Pteridium aquilinum*) i dr. budući da preferiraju bazna zemljišta. Dobar indikator terena na kojima uspevaju tartufi su: klokočika (*Staphylea pinnata*), glog, dren, ruj, crni jasen, mukinja... kao i tartufna mušica (*Helomya tartuifera*), pukotine zemljišta iznad tartufa, kao i opekotine oko biljke domaćina. “Opekotine” se javljaju samo kod crnih tartufa, dok je kod belih jedini spoljašnji znak miris (Hrka, 1984).

UZGOJ TARTUFA

Prvi pokušaji gajenja tartufa u Italiji i Francuskoj datiraju još iz doba renesanse. Ipak, uspešna komercijalna kultivacija tartufa je započeta tek početkom 19. veka kada je Josef Talon u Francuskoj razvio jednostavan ali efikasan metod za kultivaciju crnog tartufa (*T. melanosporum*). Ova tehnika uključuje sejanje žira, sakupljenog ispod hrastova koji daju tartufe, na područjima gde su spore tartufa već bile prisutne u zemljištu. Ovo je bilo veoma efikasno u Francuskoj, ali u Italiji ovaj metod nije imao uspeha. Moderan uzgoj tartufa je započeo u Francuskoj i Italiji sedamdesetih godina 20. veka nakon otkrića mikorizne prirode tartufa (Zambonelli et al, 2015).

U početku su isprobana tri metoda inokulacije biljaka: inokulacija sporama, tehnika majkom biljkom i inokulacija micelijom. Tehnika majkom biljkom uključuje sadnju sadnica u korensku zonu biljke za koju se zna da je mikorizirana željenim

tartufom. Budući da je veoma teško dobiti čistu micelijarnu kulturu vrsta iz roda *Tuber* spp., biljke kolonizovane tartufima se proizvode obično inokulacijom sporama (Mello et al., 2006; Zambonelli et al., 2015).

Uprkos uspešnom gajenju vrsta *T. melanosporum*, *T. borchii* i *T. aestivum* i dalje se javljaju značajni problemi – neka uzgajališta ili ne daju tartufe ili su oni malobrojni i lošeg kvaliteta. Najčešći razlog za ovo je loš kvalitet biljaka domaćina, kao i njihova loša prilagođenost zemljišnim i klimatskim uslovima koji vladaju na lokalitetu (Zambonelli et al., 2015).

Od glavnih vrsta evropskih tartufa samo se najskuplji italijanski beli tartuf *T. magnatum* još uvek uspešno ne uzgaja. Glavni razlog za to su teškoće da se u rasadniku dobiju biljke mikorizirane ovim tartufom kao i značajni problemi sa kontaminacijom. Još jedan ograničavajući faktor je to što su njegova biologija i ekologija zemljišta još uvek nepoznanice. Loša produktivnost može biti i posledica nedovoljnog poznavanja njegovog reproduktivnog ciklusa (Zambonelli et al., 2015).

Revolucionaran pristup gajenja tartufa bio bi korišćenje micelijarnog inokuluma koji je adaptiran na specifične klimatske i edafske uslove, kao i na domaćina. Međutim, jedno od najvećih ograničenja komercijalne aplikacije ove tehnike su teškoće u izolaciji i održavanju micelije tartufa u čistoj kulturi, kao i proizvodnja micelijarne biomase na veliko. Budući da genotipovi biljaka različito utiču na proizvodnju tartufa neki rasadnici koriste one klonove biljaka koji su uspešni u tome (Zambonelli et al., 2015).

Komercijalno važni mediteranski pravi tartufi uključuju i neke vrste koje se sada gaje i van njihovog prirodnog staništa. *Tuber melanosporum* se gaji na svim kontinentima, *Tuber aestivum* i *T. borchii* se takođe gaje širom sveta. Ove dve vrste imaju širok spektar domaćina, široku ekološku valencu i oformljeno tržište. U Kini se gaji više vrsta tartufa od kojih je najvažniji *Tuber indicum*. U Severnoj Americi je rastuće interesovanje za tartufe obezbedilo tržište za Oregonski beli tartuf (prvenstveno *Tuber gibbosum* i *Tuber oregonense*) i hikori tartuf (*Tuber lyonii*). U SAD je posađeno preko 100 000 sadnica inokuliranih tartufima *T. melanosporum* i *T. borchii*. Plantaže na kojima se gaje tartufi su zasnovane i u Tasmaniji, Zapadnoj i Južnoj Australiji i Novom Južnom Velsu (Berch, 2013; Zambonelli et al., 2015; Diamandis, 2017).

Crni tartuf *T. melanosporum* je najšire gajena vrsta tartufa na svetu dok je *T. aestivum* na drugom mestu. Od preko 200 vrsta tartufa, koliko ih je ukupno procenjenih na svetu (Bonito et al., 2010), postoji više vrsta koje su morfološki veoma slične kao što su *T. brumale*, *T. indicum* i *T. melanosporum*. Globalizacija tržišta tartufa je, zahvaljujući rastućem interesu za gajenje tartufa širom sveta, dovela do mera predostrožnosti prilikom pripreme inokuluma (Murat, 2015).

Letnji tartuf (*T. aestivum*) se u Francuskoj gaji više od 30 godina, takođe gaji se i u Italiji, Španiji, Švedskoj, Mađarskoj i Austriji. Evropa ima ogroman potencijal za gajenje ovog tartufa zato što se može gajiti i na zemljištima nepovoljnih osobina (čak i veoma kiselim) ukoliko im se poveća pH dodavanjem kreča. Najvažniji faktor koji ograničava gajenje *T. aestivum* u Evropi je klima (Chevalier, 2009). Bratek et al., (2010) ističu koliko veliki značaj na produktivnost *T. aestivum* ima dobro balansirano snabdevanje vodom. U njihovom

istraživanju letnji tartuf je bio redak ili odsutan u sušnim šumskim tipovima (npr. hrastove šume na peskovitim zemljištima ili na lesu) i u šumama močvara. Prvi rod tartufa *T. aestivum* može da se očekuje od 4. do 11. godine nakon zasnivanja plantaže (Donnini et al., 2009).

Da bi se postigao dobar kvalitet inokulisanih sadnica, moraju se proveravati vegetativni kvalitet sadnica i nivo mikorizne kolonizacije. Murat et al., (2005) su vršeći "skrining" mikoriznih vrhova u zemljištu u kom rastu tartufi, utvrdili da je mikoriza tartufa *T. magnatum* prisutna retko, te su zaključili da ova gljiva ulaže više u formiranje plodnih tela nego u kolonizaciju korena. Takođe, mikorize ove vrste su bile prisutne u neproduktivnom periodu (kada gljiva nije obrazovala plodna tela) kao i u neproduktivnom delu zemljišta (u kome nije bilo plodnih tela) ukazujući na to da ne postoji direktna veza mikorize i plodnih tela.

Iako ne postoji odlučujuća veza između nivoa mikorizne kolonizacije inokulisanih sadnica pre sadnje i produkcije askokarpa nakon zasnivanja plantaže, sadnja biljaka sa visokim stepenom kolonizacije tartufima je preporučljiva kako bi se povećala šansa za proizvodnju tartufa u plantaži (Murat, 2015).

Da bi se dobile kvalitetno inokulisane sadnice za komercijalne svrhe neophodno je da se proveriti kvalitet inokuluma kako bi se izbegla kontaminacija (npr. *T. melanosporum* često bude zamenjen sličnim, a neželjenim vrstama kao što su *T. indicum* ili *T. brumale*). Zatim je neophodno kontrolisati nivo kolonizacije tartufa koji treba da bude odgovarajući za komercijalne svrhe. Takođe, kontrolu kvaliteta treba da vrše nezavisne objektivne institucije (Murat, 2015). Prvi neophodan korak je da se precizno definiše značenje termina "kvalitetno inokulisana sadnica za kultivaciju tartufa" tj. da se utvrdi u kolikom procentu vrhovi korena treba da budu kolonizovani željenom vrstom tartufa, kao i da se postigne dogovor oko kriterijuma za vršenje kontrole svih komercijalno inokulisanih sadnica u Evropi (Murat, 2015).

Nisu ni sve vrste drveća jednako podložne mikorizaciji tartufima. Prilikom mikorizacije lužnjaka, cera i lešnika sporama tartufa *Tuber macrosporum* samo je lužnjak oformio ektomikorizu u zadovoljavajućem procentu. Takođe, supstrat je imao značajan uticaj na formiranje mikorize. Naime, tartuf je formirao ektomikorizu na lužnjaku gajenom u supstratu baziranom na prirodnom zemljištu, dok u supstratu baziranom na tresetu nije uopšte primećena mikoriza ovog tartufa (Benucci et al., 2012).

Pošto su plodna tela tartufa hipogeična, zemljišna mikrofauna i mikroorganizmi mogu uticati na formiranje tartufa. Brojni zemljišni mikroorganizmi stupaju u interakciju sa gljivama promovišući antagonističke, kompetitivne ili sinergističke aktivnosti. Čak je utvrđeno da neki kvasci koji žive na askokarpima tartufa obrazuju molekule koji daju karakterističnu aromu tartufa i na taj način kvasci imaju komplementarnu ulogu i doprinose konačnoj aromi tartufa (Mello et al., 2006).

De Miguel et al., (2014) su sumirali podatke o zajednicama gljiva na staništima tartufa na osnovu 85 radova koji se bave različitim istraživanjima tartufa u prirodnim staništima i plantažama. Otprilike 25% vrsta svih zabeleženih ektomikoriznih gljiva su bile zajedničke u većini istraživanja. Generalno, više vrsta gljiva je nađeno u produktivnim plantažama (koje daju plodna tela tartufa) nego u

onim neproduktivnim. Plantaže tartufa su imale raznolike zajednice ektomikoriznih gljiva u kojima su vrste roda *Tuber* bile dobro predstavljene. *Tuber rufum* i neki članovi reda Boletales su se tipično javljali na produktivnim parcelama, dok su vrste iz rodova *Hebeloma*, *Laccaria* i *Russula* bile uglavnom vezane za neproduktivne parcele. Ektomikorizne vrste iz familije Thelephoraceae su češće nalažene u zrelih uzgajalištima tartufa, ali najverovatnije nemaju uticaja na produkciju plodnih tela tartufa. Ektomikorizna zajednica gljiva na uzgajalištu tartufa je pod uticajem nekoliko biotičkih i abiotičkih faktora kao što su starost plantaže, vrsta domaćina i njegov rast, okruženje (naročito prisustvo drugih ektomikoriznih domaćina) i upravljanje plantažom.

Pučavajući vremensku dinamiku ektomikoriznih gljiva i perzistenciju *Tuber melanosporum*-a na inokulisanim sadnicama lužnjaka, Otsing i Tedersoo, (2015) su zabeležili rodove *Hymenogaster* i *Hebeloma* kao dominantne kompetitorne ektomikorizne vrste.

Tartufi imaju dugu tradiciju sakupljanja na Balkanskom poluostrvu, naročito u Sloveniji, Hrvatskoj i Rumuniji. Međutim, tartufi se dobijaju traženjem u prirodi. Ne postoji podsticajna politika za sistematsko zasnivanje plantaža tartufa. Takođe, u većini balkanskih zemalja ne postoje zakoni koji uređuju održivo gazdovanje tartufima, niti jestivim pečurkama generalno (Diamandis, 2017).

U naučnoj literaturi nema podataka o zasnivanju plantaža sa mikoriziranim sadnicama, niti o gajenju tartufa u Srbiji osim rada Glamočlija, (2000) koja je istraživala korenov sistem sadnica hrasta (*Quercus cerris*, *Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. borealis*) i leske (*Corylus avellana*), inokulisan je suspenzijom spora tartufa (*Tuber aestivum* Vitt., *T. melanosporum* Vitt., *T. macrosporum* Vitt. i *T. magnatum* Pico ex Vitt). Korenje sa mikorizom je posmatrano periodično i nakon 4 meseca simbioze opažene su promene na ultrastrukturnom nivou. Koreni mikoriziranih biljaka su imali veći broj grananja i tamniju boju u poređenju sa korenima kontrolnih biljaka. Dve godine nakon inokulacije, korenski sistem mikoriziranih biljaka je i dalje bio bolje razvijen u odnosu na korene kontrolnih biljaka. Biljke su nakon 4 godine posađene na eksperimentalno polje (Glamočlija, 2000). Međutim, nema podataka da li su tartufi u zajednici sa ovim biljkama obrazovali plodna tela.

Diamandis, (2017) navodi da je u Grčkoj gajenje tartufa doživelo ekspanziju u poslednjih 15 godina i da trenutno ima preko 100 ha malih plantaža koje proizvode uglavnom crne tartufe. Autor smatra da je buduća perspektiva za uzgoj tartufa u balkanskim zemljama dobra, naročito za one u planinskim i subplaninskim područjima na marginalnim zemljištima i ograničenim potencijalom za poljoprivredu i šumarstvo.

Iako već brojni rasadnici širom sveta proizvode sadnice inokulisane tartufima, mnogi faktori koji obezbeđuju uspeh u proizvodnji tartufa, kao što su kvalitet i kvantitet inokuluma, navodnjavanje, đubrenje, temperatura, nivo svetla, formulacija i pH medijuma za gajenje postaju profesionalna tajna. Drugi ključni faktor je kontrola kontaminatorskih saprobnih i ektomikoriznih gljiva kao što su *Thelephora* spp., *Sphaerosporella brunnea* i *Pulvinula constellation* (Hall et al., 2003). Veliki problem je što se većina mikoriziranih biljaka uvozi iz italijanskih i francuskih rasadnika, pa se na taj način u druge zemlje introdukuju različiti biljni i genomi gljiva.

Kako se ne bi narušavao balans ekosistema neophodno je da se, prilikom zasnivanja zasada mikoriziranih biljaka, koriste autohtoni tj. lokalni genetički resursi. Takođe je neophodno da se donesu zakoni o sertifikaciji tartufa, njihovom održivom gazdovanju i kontroli sadnica kolonizovanih ovim gljivama. Budući da je zabeleženo opadanje brojnosti prirodnih populacija tartufa u Evropi trebalo bi premestiti fokus sa traženja tartufa u prirodi na zasnivanje plantaža sa mikoriziranim biljkama (Urban i Pla, 2009; Diamandis, 2017).

Zahvalnica

Ovaj rad je realizovan u okviru projekata: „Istraživanje klimatskih promena i njihovog uticaja na životnu sredinu: praćenje uticaja, adaptacija i ublažavanje“ (III43007) koji finansira Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije u okviru programa Integrisanih i interdisciplinarnih istraživanja za period 2011-2017. godine.

LITERATURA

- Alonso Ponce, R., Ágreda, T., Águeda, B., Aldea, J., Martínez-Peña, F., Modrego, M. P. (2014): Soil physical properties influence 'black truffle' fructification in plantations. *Mycorrhiza* 21(Supp. 1): 55-64 doi:10.1007/s00572-014-0558-7
- Benucci, G. M., Gógán Csorbai, A., Baciarelli Falini, L., Bencivenga, M., Di Massimo, G., Donnini, D. (2012): Mycorrhization of *Quercus robur* L., *Quercus cerris* L. and *Corylus avellana* L. seedlings with *Tuber macrosporum* Vittad. *Mycorrhiza* 22: 639–646.
- Berch, S. M. (2013): Truffle cultivation and commercially harvested native truffles. Proceedings of International Symposium on Forest Mushroom, August 6 2013, Seoul, South Korea
- Bonito, G., Smith, M. E., Nowak, M., Healy, R. A., Guevara, G., Cázares, E., Kinoshita, A., Nouhra, E. R., Domínguez, L. S., Tedersoo, L., Murat, C., Wang, Y., Moreno, B. A., Pfister, D. H., Nara, K., Zambonelli, A., Trappe, J. M., Vilgalys, R. (2010): Histotical biogeography and diversification of truffles in the Tuberaceae and their newly identified southern hemisphere sister lineage. *PLOS One* 8(1): 1-15.
- Bratek, Z., Merenyi, Z., Illies, Z., Laslo, P., Anton, A., Papp, L., Merkl, O., Garay, J., Viktor, J., Brandt, S. (2010): Studies on the ecophysiology of *Tuber aestivum* populations in the Carpatho-Pannonian region. *Österr. Z. Pilz.* 19: 221–226.
- Chevalier, G. (2009): The truffle of Europe (*Tuber aestivum* Vitt): ecology and possibility of cultivation. First Conference on the “European” Truffle *Tuber*

- aestivum/uncinatum*, 6-8.11.2009, Faculty Centre of Biodiversity, University of Vienna, Vienna
- De Miguel, A. M., Águeda, B., Sánchez, S., Parladé, J. (2014): Ectomycorrhizal fungus diversity and community structure with natural and cultivated truffle hosts: applying lessons learned to future truffle culture. *Mycorrhiza* 24(Supp. 1): 5-18. doi:10.1007/s00572-013-0554-3
- Diamandis, S. (2017): Cultivating truffles - world trends and Balkan challenges. 70 years Faculty of forestry in Skopje International Scientific Conference: „Sustainable Forestry: Fact or Fiction?“ 4-6th October 2017, Skopje, Republic of Macedonia Book of abstracts: p 12.
- Donnini, D., Baciarelli Falini, L., Di Massimo, G., Benueci, G. M. N., Bencivenga, M. (2009): Experience of *Tuber aestivum* Vittad. cultivation in Central Italy. First Conference on the “European” Truffle *Tuber aestivum/uncinatum*, 6-8.11.2009, Faculty Centre of Biodiversity, University of Vienna
- Glamočlija, J. (2000): Mycorrhization of oak and hazel trees with different species of the genus *Tuber*. *Arch.Biol. Sci.*, Belgrade 52 (2): 109-114.
- Glamočlija, J., Vujičić, R., Vukojević, J. (1997): Evidence of truffles in Serbia. *Mycotaxon* **LXV**: 211-222.
- Hall, I. R., Brown, G. T., Zambonelli, A. (2007): Taming the truffle. The history, lore, and science of the ultimate mushroom. Timber Press, Inc, Portland OR, USA. 304 pp.
- Hall, I. R., Yun, W., Amicucci, A. (2003): Cultivation of edible ectomycorrhizal mushrooms. *Trends in Biotechnology* 21(10): 433-438.
- Hrka, J. (1984): Općenito o tartufima, njihovim prirodnim nalazištima i uzgoju na umjetni način. *Šumarski list CVIII*: 523-535
- Ivančević, B. (2016): Prostorna distribucija i ekološke varijacije staništa hipogeičnih makromiceta (*Mycota*) u Srbiji, Doktorska disertacija, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd: 331 str.
- Katanić M. (2014): Diverzitet mikoriznih gljiva topola (*Populus* spp.), Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad: 194 str.
- Katanić, M., Grebenc, T., Orlović, S., Matavuly, M., Kovačević, B., Bajc, M., Kraigher, H. (2015a): Ectomycorrhizal fungal community associated with autochthonous white poplar from Serbia. *iFOREST Biogeosciences and Forestry* 9: 330-336. doi: [10.3832/ifor1370-008](https://doi.org/10.3832/ifor1370-008)
- Katanić, M., Orlović, S., Bajc, M., Grebenc, T., Matović, B., Pekeč, S., Kraigher, H. (2016): Ectomycorrhizal fungi on beech in Serbia, *Proceedings, VII International Scientific Agricultural Symposium “Agrosym 2016”*, 6-9th October 2016, Bosnia and Herzegovina: 2917-2923
- Katanić, M., Orlović, S., Grebenc, T., Bajc, M., Galić, Z., Kebert, M., Kraigher, H. (2011): Mycorrhizal fungi on poplars from a pyrite contaminated site, *Proceedings book of „STREPOW“ International Workshop*, February 23 - 24, 2011 Andrijevica-Novu Sad, Serbia: p. 305-312
- Katanić, M., Orlović, S., Grebenc, T., Kovačević, B., Kebert, M., Matavulj, M., Kraigher, H. (2015b): Mycorrhizal fungal community of poplars growing on pyrite tailings contaminated site near the river Timok. South-east

- European forestry 6 (1): 53-63. DOI:<http://dx.doi.org/10.15177/see-for.14-18>
- Katanić, M., Orlović, S., Grebenc, T., Kovačević, B., Matavuly, M., Kraigher, H. (2014): Ectomycorrhizal fungal community in mature poplar plantation. Book of abstracts of What are we linking? The 1st annual meeting of Cost action FP 1305 Biolink, 4-7 November at University of Reading, Reading, Berkshire, United Kingdom: 25
- Marjanović, Ž., Grebenc, T., Marković, M., Glišić, A., Milenković, M. (2009): Molecular diversity and ecological specificity of truffles (genus *Tuber*) originating from mid-west of the Balkan Peninsula Sydowia XX (X): pp-pp
- Mello, A., Murat, C., Bonfante, P. (2006): Truffles: much more than a prized and local fungal delicacy. FEMS Microbiol Lett 260: 1–8.
- Milenković, M., Glamočlija, J., Veljković, V. & Vukojević, J. (1992) Record of two *Tuber* (*T. aestivum* and *T. melanosporum*) species in Serbia. Archives of Biological Sciences 44: 223-228.
- Milenković, M., Grebenc, T., Marković, M., Ivančević, B. (2016): *Tuber petrophilum*, a new truffle species from Serbia. Mycotaxon 130(4): 1141–1152.
- Murat, C. (2015): Forty years of inoculating seedlings with truffle fungi: past and future perspectives. Mycorrhiza 25(1):77-81.
- Murat, C., Vizzini, A., Bonfante, P., Mello, A. (2005): Morphological and molecular typing of the below-ground fungal community in a natural *Tuber magnatum* truffle-ground. FEMS Microbiol Lett 245: 307–313.
- Olivera, A., Bonet, J. A., Oliach, D., Colinas, C. (2014): Time and dose of irrigation impact *Tuber melanosporum* ectomycorrhiza proliferation and growth of *Quercus ilex* seedling hosts in young black truffle orchards. Mycorrhiza 24(Supp.1): 73-78. doi:10.1007/s00572-013-0545-4
- Otsing, E., Tedersoo, L. (2015): Temporal dynamics of ectomycorrhizal fungi and persistence of *Tuber melanosporum* in inoculated *Quercus robur* seedlings in North Europe. Mycorrhiza 25(1):61-66.
- Patel, S. (2012): Food, Health and Agricultural Importance of Truffles: A Review of Current Scientific Literature Current Trends in Biotechnology and Pharmacy 6 (1): 15-27.
- Salerni, E., Iotti, M., Leonardi, P., Gardin, L., D'Aguanno, N., Perini, C., Pacioni, G., Zambonelli, A. (2014): Effects of soil tillage on *Tuber magnatum* development in natural truffières. Mycorrhiza 24(supp. 1): 79-87. doi:10.1007/s00572-013-0543-6
- Shamekh, S., Grebenc, T., Leisola, M., Turunen, O. (2014): The cultivation of oak seedlings inoculated with *Tuber aestivum* Vittad. in the boreal region of Finland. Mycological Progress 13 (2): 373-380.
- Splivallo, R., Ottonello, S., Mello, A., Karlovsky, P. (2011): Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis. New Phytologist 189: 688–699. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03523.x
- Streiblová, E., Gryndlerová, H., Gryndler, M. (2012): Truffle brûlé: an efficient fungal life strategy. FEMS Microbiol Ecol 80: 1–8.

- Urban, A., Pla, T. (2009): From landscape history to genetic diversity - conservation strategies for *Tuber aestivum*. First Conference on the "European" Truffle *Tuber aestivum/uncinatum*, 6-8.11.2009, Faculty Centre of Biodiversity, University of Vienna, Vienna
- Wedén, C., Danell, E., Camacho, F. J., Backlund A. (2004): The population of the hypogeous fungus *Tuber aestivum* syn. *T. uncinatum* on the island of Gotland. *Mycorrhiza* 14:19–23.
- Zambonelli, A., Iotti, M., Hall, I. (2015): Current status of truffle cultivation: recent results and future perspectives *Micologia Italiana* 44: 31-40. DOI: 10.6092/issn.2465-311X/5593

Summary

BIOLOGY AND CULTIVATION OF TRUFFLES IN THE WORLD AND SERBIA

by

Marina Katanić, Miroslav Marković, Predrag Pap, Milica Zlatković
Saša Pekeč, Branislav Kovačević

Truffles are ectomycorrhizal fungi, mainly from the genus Tuber (Ascomycota: Pezizales) which form underground fruiting bodies which are aromatic, wrinkled and look like potatoes. Food specialists describe their scent as sensual, seductive and unique. The aromatic compounds produced by truffles attract mammals and insects that are able to locate these precious fungi below ground and disperse their spores. Truffles use volatile signaling molecules throughout their life cycle to regulate their interactions with microorganisms and roots of host plants. Based on differences in peridium color and surface, color of gleba and spore form, truffles are divided into black and white. White truffles include Tuber magnatum, T. maculatum, T. borchii; while black truffles include T. melanosporum, T. aestivum and T. brumale.

Survival and reproductive success of truffles is affected by numerous ecological factors. In the period when truffles begin with the formation and development of fruiting bodies, the optimal temperature and amount of moisture in the soil are crucial for a good truffle production. Moreover, important factors include geological background, the chemical composition and the structure of the soil. In addition, the most important factor is a compatible plant partner, because truffles produce fruiting bodies only when they enter symbiosis with the plant roots.

The black truffle T. melanosporum is the most cultivated truffle species worldwide, while T. aestivum is in second place. Inoculation with spores is the most common method for producing plants colonized with truffle mycorrhizas. In order to obtain good quality inoculated seedlings for commercial purposes it is necessary to check the quality of the

inoculum to avoid contamination. Then is necessary to control the level of truffle colonization that should be appropriate for commercial purposes. Quality control should be carried out by independent, objective institutions.

A revolutionary approach in truffle cultivation is the use of mycelial inoculation technique for producing plants colonized with truffles adapted to specific climatic and edaphic conditions, as well as to the host plant. Truffle plantations should be established using local genetic resources. It is also necessary to introduce legislation for certification of truffles, their sustainable management and control of seedlings colonized by truffles. Considering the decline in the number of natural truffle populations in Europe, the focus of future research should move from searching for wild truffles to the establishment of truffle plantations.