

Urszula SMOLIŃSKA^{1*}, Ewa GOŁĘBIEWSKA¹, Beata KOWALSKA¹
Waldemar KOWALCZYK², Magdalena SZCZECZ¹

¹ Instytut Ogrodnictwa, Pracownia Mikrobiologii
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

* e-mail: Urszula.Smolinska@inhort.pl

² Instytut Ogrodnictwa, Samodzielna Pracownia Analiz Chemicznych
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

Materiały odpadowe jako nośniki antagonistycznych grzybów *Trichoderma*

Konsekwencją unowocześniania polskiego rolnictwa i specjalizacji gospodarstw jest coraz większy problem z bezpiecznym dla środowiska naturalnego wykorzystaniem różnego rodzaju odpadów organicznych, powstających w trakcie produkcji i przetwarzania produktów rolnych. Celem badań było określenie tempa wzrostu i zarodnikowania wybranych izolatów antagonistycznych grzybów *Trichoderma* na podłożach organicznych, skomponowanych z materiałów odpadowych. W doświadczeniach wykorzystano gatunki: *Trichoderma harzianum* izolaty TRS 61, TRS 59, TRS 69 oraz *T. atroviride* izolaty TRS 14 i TRS 6. Komponentami służącymi do wytwarzania podłoży organicznych były materiały odpadowe z gospodarstw rolnych oraz odpady z produkcji przetworów warzywnych i gospodarstwa domowego. Stwierdzono, że analizowane izolaty grzybów *Trichoderma* najlepiej rosły i zarodnikowały na podłożach zawierających w swoim składzie słomę pszenną moczoną w wodach drenazowych z upraw pod osłonami, odpad z marchwi, ziemniaka lub buraka oraz na podłożach zawierających podłoże popieczarkowe z dodatkiem odpadu z marchwi i buraka. Wyniki uzyskane w tej pracy wskazują, że różnorodne organiczne odpady można wykorzystywać w rolnictwie jako nośniki mikroorganizmów antagonistycznych.

Słowa kluczowe: *Trichoderma*, odpady organiczne, podłoża wzrostowe, zarodnikowanie

Wprowadzenie

Jedną z grup odpadów są odpady organiczne powstałe w wyniku procesów produkcji z różnych dziedzin przemysłu. Dużą ich część stanowią odpady z przemysłu rolno-spożywczego, takie jak: słomy po zbiorach zbóż, odpady powstałe w przetwórstwie warzyw, wysłodki, wytłoki czy odpady z upraw hydroponicznych. Znaczna część tych odpadów powstaje w dużej ilości oraz krótkim okresie czasu. Ich szybkie wykorzystywanie może zapobiegać wydzielaniu odorów i zmarnowaniu cennych składników mineralnych.

Niestety, podstawową metodą unieszkodliwiania odpadów w Polsce jest ich składowanie. Najczęściej są one gromadzone w stanie nieprzerobionym i stanowią zagrożenie dla czystości wód podziemnych i powierzchniowych. Składowiska odpadów są uciążliwe dla środowiska, emitują do atmosfery zanieczyszczenia pyłowe, gazowe, bakteriologiczne oraz odory i metan. Na terenie składowisk gromadzą się różnego rodzaju grzyzie i ptactwo [1].

Metodą alternatywną dla gromadzenia odpadów na składowiskach jest ich biologiczne przetwarzanie przy wykorzystaniu mikrobiologicznych procesów w celu uzyskania ich rozkładu i/lub przekształcenia w materiał, który może być użyty w rolnictwie (np. w postaci kompostów). Wzbogacenie gleby w substancję organiczną powoduje zwiększenie liczebności mikroorganizmów (bioróżnorodność), co zwiększa żyzność gleby. Wśród tych mikroorganizmów znajdują się mikroorganizmy pożyteczne dla roślin, które stanowią naturalną barierę ochronną przed patogenami [2, 3]. Ma to szczególne znaczenie obecnie, ponieważ do 2014 r. Polska musi wprowadzić integrowane systemy ochrony roślin. Wymagają one znacznego ograniczenia w stosowaniu syntetycznych środków ochrony na korzyść naturalnych.

W Polsce obowiązuje szereg przepisów prawnych wskazujących, że preferowanym sposobem zagospodarowania odpadów ulegających biodegradacji jest ich selektywne zbieranie i biologiczne przetwarzanie. Dyrektywa Rady Unii Europejskiej 1999/31/WE w sprawie składowania odpadów, która weszła w życie z dniem 16 lipca 1999 r., ma szczególne znaczenie, ponieważ zobowiązuje Polskę do zmniejszenia ilości składowanych odpadów komunalnych ulegających biodegradacji w odniesieniu do ich masy wytworzonej o 50% w 2013 roku i o 65% w 2020 roku (Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej 1999 L182/1) [4]. Aby spełnić wyżej wymienione cele w zakresie gospodarowania odpadami komunalnymi ulegającymi biodegradacji, Polska musi rozbudować system unieszkodliwiania odpadów [5].

Autorzy tej pracy proponują wykorzystać organiczne odpady jako nośniki mikroorganizmów antagonizujących, co może znaleźć zastosowanie w uprawie roślin.

Jednym z organizmów często stosowanych w biologicznej ochronie roślin są grzyby z rodzaju *Trichoderma* [6]. Wiadomo z dostępnej literatury, że grzyby te, dodane do gleby, mogą stymulować wzrost roślin i działać antagonistycznie w stosunku do wielu patogenów roślinnych [7-10]. *Trichoderma* zwalczają szeroką gamę mikroorganizmów patogennych, tj.: *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria alternata*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae* czy *Botrytis cinerea* oraz bakterie i wirusy [6-8, 11-13]. Dzięki produkowaniu przetrwalników - chlamydospor - mogą przetrwać w niekorzystnych warunkach przez wiele miesięcy. Działanie *Trichoderma* polega na: 1) intensywnej produkcji enzymów litycznych, która jest związana ze zdolnością do pasożytnictwa; 2) antybiozie; 3) konkurencji o składniki pokarmowe i przestrzeń z innymi mikroorganizmami; 4) zdolności do modyfikacji warunków środowiskowych (np. mogą zakwaszać środowisko, przez co stwarzają niedogodne warunki dla rozwoju innych mikroorganizmów oraz ułatwiają uwalnianie niedostępnych składników pokarmowych); 5) stymulacji wzrostu roślin; 6) indukcji odporności w roślinach [7, 8, 10, 14-17].

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* występują na całym świecie we wszystkich typach gleb. Bytują w glebie, na powierzchni korzeni roślin, nieliczne szczepy mogą penetrować także w głąb korzenia. Są to grzyby saprotroficzne zasiedlające martwą materię organiczną. Niektóre z nich posiadają właściwości pasożytnicze na innych grzybach. Szybko rosną, dzięki czemu są jednymi z pierwszych mikroorganizmów zasiedlających gleby i podłoża po procesie fumigacji, silnie konkurując z innymi mikroorganizmami. Grzyby *Trichoderma* są cudzożywne, czyli nie są zdolne do

samodzielnej syntezy związków organicznych węgla. Dlatego czerpią je w gotowej postaci ze środowiska, najczęściej w postaci cukrów prostych i wielocukrów. Źródłem azotu są dla nich jony azotanowe, amoniak i niektóre aminokwasy.

Trichoderma szybko namnażają się na różnorodnych podłożach organicznych [18]. Tempo wzrostu i kolor kolonii uzależniony jest od rodzaju podłoża i temperatury. Grzybnia może mieć różne odcienie zieleni, często z nalotem szarobiałym lub żółtawym. Po kilku dniach na powierzchni grzybni tworzą się hialinowe, najczęściej wielokrotnie rozgałęzione trzonki konidialne, noszące zarodniki (konidia). W strzępkach grzybni mogą tworzyć się chlamydospory, grubościennie formy przetrwalne, zwykle jednokomórkowe, czasami połączone ze sobą [19-21].

Wydaje się, że dobierając kompozycje odpadów w taki sposób, aby jak najbardziej stymulowały ich wzrost, można spowodować, że będą one znacząco dominowały wśród innych mikroorganizmów. Innym ważnym argumentem zastosowania tych grzybów jest to, że mogą one przyspieszać rozkład różnorodnych odpadów, zwłaszcza takich jak np. słoma zbóż, zawierających dużo węgla, a mało azotu. Wprowadzając do gleby odpady przerośnięte wyselekcjonowanymi grzybami *Trichoderma*, możemy wzbogacić ją zarówno w korzystne mikroorganizmy, jak i substancje odżywcze dla roślin. Wprowadzenie do intensywnie użytkowanej rolniczo gleby mikroorganizmów o cechach takich jak grzyby *Trichoderma* może zwiększyć jej supresyjne właściwości i przyczynić się do zmniejszenia stosowania syntetycznych środków ochrony roślin.

Celem przedstawianej pracy była ocena intensywności wzrostu i zarodnikowania wybranych izolatów grzybów *Trichoderma* na wyselekcjonowanych podłożach organicznych oraz określenie przydatności wybranych organicznych materiałów odpadowych do namnażania *Trichoderma*.

1. Materiały i metody

1.1. Zastosowane izolaty grzybów

Izolaty należące do rodzaju *Trichoderma*:

- *T. harzianum* (izolaty TRS 61; TRS 59; TRS 69)
- *T. atroviride* (izolaty TRS 14; TRS 6)

Szczepy pochodzą z kolekcji Pracowni Mikrobiologii Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach. Izolaty przechowywano w 2% glicerolu, w temperaturze -80°C . W celu namnożenia grzyba wyjmowano zamrożone fragmenty grzybni i wyszczepiano na pożywkę ziemniaczaną (ang. *potato dextrose agar*) - PDA (Merck) z dodatkiem streptomycyny i ryfampicyny. Szalki inkubowano przez 5-7 dni w temperaturze 25°C w termostatach.

1.2. Organiczny materiał odpadowy

W badaniach zastosowano następujące odpadowe materiały organiczne: słomy zbóż (pszenna, jęczmienna, pszenżytnia); odpady z produkcji i przetwórstwa

warzyw: odpad z marchwi (świeży), susz z marchwi, odpad z buraka ćwikłowego (świeży), susz z buraka (firma „Urbanek”, Łowicz); z ziemniaków (obierki), łuski cebuli, liście kapusty, podłoże popieczarkowe, zmielona tektura, otręby pszenne, wycłoczyny z rzepaku (firma Ardex).

1.3. Analizy chemiczne i fizyczne

Wykonano analizy chemiczne i fizyczne materiałów odpadowych stosowanych w badaniach. Analizy chemiczne materiałów organicznych przeprowadzono dwoma metodami: 1) za pomocą ekstrakcji dostępnych makroskładników 0,03N kwasem octowym (N, P, K, Ca, Mg); 2) z zastosowaniem mineralizacji mikrofalowej w stężonym kwasie azotowym w układzie zamkniętym (P, K, Ca, Mg, Na, S, Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo) oraz mineralizacji w stężonym kwasie siarkowym (N ogólny). Analizowane składniki mineralne oznaczano metodami spektrometrii plazmowej, absorpcji atomowej oraz metodami kolorymetrycznymi, tzw. segmentem „flow system”. Właściwości fizyczne materiałów organicznych określano zgodnie z procedurami, wg norm [22-24], przy wykorzystaniu aparatu piaskowo-kaolinowego firmy „Eijkelkamp”, suszarki i pieca do spalań (C, zawartość popiołu).

1.4. Przygotowanie podłoży z mieszanek materiałów organicznych

Celem tego etapu było opracowanie składu podłoży z organicznych materiałów odpadowych, umożliwiających wzrost grzybów *Trichoderma*. Pierwszym zadaniem było przygotowanie mieszanin z tych materiałów. Przy ich wyborze brano pod uwagę ich skład chemiczny oraz właściwości fizykochemiczne, w taki sposób komponując mieszanki, aby dostarczyć grzybom składników odżywczych zapewniających optymalny wzrost. Przygotowano łącznie 32 różne podłoża (tab. 1). Doświadczenia, ze względów praktycznych, wykonano w 4 seriach.

Tabela 1. Skład podłoży organicznych zastosowanych w badaniach

Table 1. The composition of media used in the research

Nazwa podłoża <i>Name of substrate</i>	Materiał organiczny <i>Organic material</i>	Proporcje poszczególnych składników (v/v) <i>The proportions of the individual components (v/v)</i>
Seria 1		
I-S1	Słoma pszenna, wycłoczyny z rzepaku, otręby pszenne	5 : 1 : 0,25
II-S1	Słoma pszenżytnia, wycłoczyny z rzepaku, otręby pszenne	5 : 1 : 0,25
III-S1	Słoma jęczmienna, wycłoczyny z rzepaku, otręby pszenne	5 : 1 : 0,25
IV-S1	Słoma pszenna, obierki ziemniaczane	1 : 1
V-S1	Słoma jęczmienna, obierki ziemniaczane	1 : 1
VI-S1	Słoma jęczmienna, odpad z marchwi	1 : 1
VII-S1	Słoma pszenżytnia, obierki ziemniaczane	1 : 1

VIII-S1	Słoma pszenżytnia, odpad z marchwi	1 : 1
IX-S1	Słoma pszenżytnia, odpad z marchwi, obierki ziemniaczane	2 : 1 : 1
X-S1	Podłoże popieczarkowe	1
XI-S1	Słoma jęczmienna, obierki ziemniaczane	1 : 0,5
Seria 2		
I-S2	Słoma pszenna, odpad z marchwi	1 : 1
II-S2	Słoma pszenna, odpad z buraka	1 : 1
III-S2	Podłoże popieczarkowe, odpad z marchwi	1 : 1
IV-S2	Podłoże popieczarkowe, odpad z buraka	4 : 1
V-S2	Podłoże popieczarkowe, odpad z buraka, odpad z marchwi	8 : 1 : 1
Seria 3		
I-S3	Podłoże popieczarkowe, susz z buraka WD	40 : 1 100 cm ³ / 410 g podłoża
II-S3	Podłoże popieczarkowe, odpad z marchwi	4 : 1
III-S3	Podłoże popieczarkowe, wycłoczyny z rzepaku WD	8 : 1 100 cm ³ / 450 g podłoża
IV-S3	Słoma pszenna moczona w WD, podłoże popieczarkowe, wycłoczyny z rzepaku, odpad z marchwi	1 : 1 : 0,2 : 0,2
V-S3	Słoma pszenna moczona w WD	
VI-S3	Słoma pszenna moczona w WD, wycłoczyny z rzepaku	5 : 1
VII-S3	Podłoże popieczarkowe WD	100 cm ³ / 400 g podłoża
VIII-S3	Słoma pszenna moczona w WD, podłoże popieczarkowe	1 : 1
IX-S3	Podłoże popieczarkowe, zmielona tektura WD	2 : 1 100 cm ³ / 300 g podłoża
X-S3	Zmielona tektura WD	200 cm ³ / 200 g podłoża
Seria 4		
I-S4	Słoma pszenna moczona w WD, wycłoczyny z rzepaku, odpad z marchwi świeży	7 : 1 : 1
II-S4	Słoma pszenna moczona w WD, wycłoczyny z rzepaku, świeże liście kapusty	7 : 1 : 1
III-S4	Słoma pszenna moczona w WD, wycłoczyny z rzepaku, łuski cebuli	7 : 1 : 1
IV-S4	Słoma pszenna moczona w WD, wycłoczyny z rzepaku, obierki ziemniaczane	7 : 1 : 1
V-S4	Słoma pszenna moczona w WD, wycłoczyny z rzepaku, susz z buraka	7 : 1 : 0,5
VI-S4	Słoma pszenna moczona w WD, wycłoczyny z rzepaku, susz z marchwi	7 : 1 : 0,5

W **Serii 1** i **Serii 2** podłoża komponowano na bazie słomy z różnych zbóż - pszenicy, pszenżyta i jęczmienia. Słomę moczone w wodzie wodociągowej przez 12 godz., następnie odsączano i dodawano pozostałe składniki. Jako dodatki stosowano wy-

łoczyny z rzepaku, otręby pszenne, odpad z ziemniaka, marchwi i buraka. W niektórych podłożach zasadniczy składnik stanowiło podłoże popieczarkowe.

W **Serii 3** i **Serii 4** stosowano tzw. wody drenarskie (WD), materiał odpadowy powstały w trakcie odżywiania upraw pod osłonami. Wody te dodawano do podłoży w celu zwiększenia zawartości składników mineralnych lub moczono w nich słomę pszeną przez 12 godzin przed doświadczeniem. W seriach 3 i 4, oprócz materiałów organicznych stosowanych w seriach 1 i 2, wykorzystywano także łuski cebuli, zewnętrzne liście kapusty i zmieloną tekturę.

Podłoża parowano w 100°C przez 1 godzinę. Po parowaniu i wystudzeniu przygotowany materiał wykładano na szalki Petriego (9 cm) i zaszczepiano w części centralnej przerośniętą grzybnią różnych izolatów *Trichoderma*. W celu stymulacji zarodnikowania szalki z podłożami wystawiano co drugi dzień na światło na około 30 min. Po inokulacji podłoża inkubowano w temperaturze 25°C przez około dwa tygodnie. Ich cechy fizyczne i skład chemiczny zaprezentowano w tabelach 2 i 3.

Tabela 2. Charakterystyka wód drenarskich (WD) z upraw bezglebowych

Table 2. The characteristics of waste nutrient solution (WD) from soilless culture system

Badane właściwości <i>Tested properties</i>	Jednostki <i>Units</i>	Zawartość <i>Concentration</i>
Właściwości fizyczne		
pH	–	7,1
EC	mS/cm	4,04
Tw. ogólna	°dH	–
HCO ₃	mg/dm ³	–
Makroelementy		
N-NO ₃ ⁻	mg·dm ⁻³	167
N-NH ₄ ⁺	mg·dm ⁻³	18,1
P	mg·dm ⁻³	47,8
K ⁺	mg·dm ⁻³	647
Ca ⁺²	mg·dm ⁻³	289
Mg ⁺²	mg·dm ⁻³	181
Na ⁺	mg·dm ⁻³	94,6
Cl ⁻	mg·dm ⁻³	134
SO ₄ ⁻²	mg·dm ⁻³	828
Mikroelementy		
Fe	mg·dm ⁻³	1,34
Fe _{ogólne}	mg·dm ⁻³	1,45
Mn	mg·dm ⁻³	1,730
Cu	mg·dm ⁻³	0,346
Zn	mg·dm ⁻³	3,170
B	mg·dm ⁻³	1,230
Mo	mg·dm ⁻³	–

Tabela 3. Skład chemiczny i właściwości fizykochemiczne wybranych materiałów organicznych
 Table 3. Chemical composition and physicochemical properties of selected organic materials

Składnik <i>Component</i>	Jednostki <i>Unit</i>	Słoma pszenna <i>Wheat straw</i>	Słoma jęczmienna <i>Barley straw</i>	Słoma pszenżytnia <i>Triticale straw</i>	Wytłoczyny z rzepaku <i>Rapeseed meal</i>	Otręby pszenne <i>Wheat bran</i>	Odpad z marchwi <i>Carrot waste</i>	Odpad z buraka <i>Beetroot waste</i>
Właściwości fizyczne								
Sucha masa	%	95,2	94,9	95,6	90,7	87,5	4,6	5,69
Substancja organiczna	% m/m	96,6	95,3	97,9	77,1	92,2	90,7	89,0
Zaw. popiołu	% m/m	3,34	4,73	2,07	22,9	7,79	9,3	11,0
Węgiel ogólny	% m/m	48,3	47,6	49,0	38,5	46,1	45,5	44,5
Gęstość obj.	kg/m ³	62,0	50,0	60,0	658	302	101	1040
Gęstość obj. suchej próby	kg/m ³	70,8	64,4	63,7	226	167	89,9	96,2
Kurczliwość	% v/v	0	0	0	18,0	4,00	90,2	75,5
Gęstość części stałych	kg/m ³	1573	1581	1603	1713	1602	1613	1639
Porowatość ogólna	% v/v	95,5	95,9	96,0	86,8	89,6	94,4	94,1
Pojemność wodna	% v/v	23,4	28,3	21,0	68,8	70,2	93,7	97,0
Pojemność powietrzna	% v/v	72,1	67,6	75,0	18,0	19,4	0,7	0,30
Makroskładniki								
N-NO ₃ (azot azotanowy)	mg·dm ⁻³	29,7	90	24,0	17	12,0	1,12	126
P-PO ₄	mg·dm ⁻³	11,0	14,0	7,50	47	17,0	51,9	50,6
Potas	mg·dm ⁻³	5180	14950	4260	14050	13120	1002	1058
Wapń	mg·dm ⁻³	3900	3240	1920	7190	4380	567	480
Magnez	mg·dm ⁻³	1150	895	938	4450	3520	110	286
Zawartości ogólne								
Azot og.	% s.m.	0,64	0,69	0,34	5,81	2,73	1,64	2,19
Fosfor	% s.m.	0,06	0,12	0,06	0,99	0,93	0,09	0,12
Potas	% s.m.	0,57	1,65	0,57	1,51	1,35	1,82	1,84
Wapń	% s.m.	0,37	0,27	0,16	0,82	0,13	0,87	0,76
Magnez	% s.m.	0,10	0,06	0,08	0,53	0,49	0,15	0,41
Sód	% s.m.	0,02	0,04	0,02	0,03	0,02	0,28	0,33
Siarka	% s.m.	0,09	0,08	0,06	0,65	0,16	0,12	0,15
Żelazo	mg/kg s.m.	51,3	59,4	61,3	159	170	339	641
Mangan	mg/kg s.m.	24,5	9,79	94,1	67,5	112	16,0	91,1
Miedź	mg/kg s.m.	12,9	14,3	13,2	15,2	20,3	261	236
Cynk	mg/kg s.m.	23,2	24,6	29,4	72,4	91,7	29,0	97,4
Bor	mg/kg s.m.	12,2	13,9	13,5	46,3	22,2	303	218
Molibden	mg/kg s.m.	0,45	0,48	1,02	1,30	1,47	–	–

Charakteryzując badane grzybnie, oceniano ich wzrost (pomiar średnicy) i intensywność zarodnikowania izolatów w skali 0-5, gdzie 0 - brak zarodnikowania, 5 - zarodnikowanie na całej powierzchni podłoża. Wszystkie kombinacje wykonano w 3 powtórzeniach (szalkach). Doświadczenia powtórzono dwa razy.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji dla doświadczeń jednoczynnikowych. Do oceny różnic między średnimi użyto testu Newmana-Keulsa przy poziomie istotności $\alpha < 0,05$.

2. Wyniki

2.1. Wzrost grzybów *Trichoderma* na podłożach Serii I

W doświadczeniu tym analizowano wzrost i zarodnikowanie pięciu wybranych izolatów *Trichoderma*: *T. harzianum* izolaty: TRS 61, TRS 59, TRS 69 oraz *T. atroviride* izolaty: TRS 14, TRS 6 na jedenastu podłożach organicznych na bazie słomy pszennej, pszenżytniej i jęczmiennej. Jak widać z prezentowanych wyników (tab. 4), zarówno wzrost grzybnii, jak i intensywność tworzenia zarodników przez szczepy *Trichoderma* na tych podłożach były zróżnicowane. Najlepszy wzrost i zarodnikowanie izolatów obserwowano na podłożu IX-S1 o następującym składzie: słoma pszenżytnia, odpad z marchwi i ziemniaków. Na tym podłożu dobrze rosły i zarodkowały niemal wszystkie izolaty *Trichoderma*, a zwłaszcza TRS 59 i TRS 6. Stwierdzono natomiast, że słoma jęczmienna nie nadaje się jako dodatek do podłoża wzrostowych dla grzybów z rodzaju *Trichoderma*. Na podłożach przygotowanych na bazie tej słomy (podłoża III-S1, V-S1), bez względu na rodzaj dodatku, wzrost grzybów był słaby lub całkowicie zahamowany. W niektórych przypadkach obserwowano wzrost grzybnii (np. TRS 69 na podłożu V-S1), natomiast nie tworzyły się zarodniki. Jedynie izolat TRS 6 stosunkowo dobrze zarodkował na tym podłożu (tab. 4). Interesujące zjawisko obserwowano na podłożu X-S1, które składało się wyłącznie z podłoża popieczarkowego. Rosły na nim tylko izolaty *T. harzianum* TRS 61, TRS 59 i TRS 69, natomiast wzrost i zarodnikowanie *T. atroviride* (TRS 14 i TRS 6) były niemal całkowicie zahamowane (tab. 4). Podłoże VIII-S1, zawierające słomę pszenżytnią i odpad z marchwi, negatywnie wpływało na wzrost i zarodnikowanie izolatu *T. atroviride* TRS 6. Zjawiska tego nie obserwowano w przypadku pozostałych badanych 5 izolatów. Izolaty *Trichoderma* TRS 6 i TRS 69 nie zarodkowały także na podłożu II-S1 zawierającym słomę pszenżytnią, wytłoczone z rzepaku i otręby pszenne. W tych warunkach najlepiej zarodkował izolat TRS 61.

Generalnie można stwierdzić, że spośród badanych izolatów najmniej wymagającym pod względem składu podłoża był izolat *T. harzianum* TRS 59, który rósł, mniej lub bardziej intensywnie, na wszystkich badanych podłożach z tej serii (tab. 4).

Tabela 4. Wzrost grzybni i zarodnikowanie izolatów *Trichoderma* na podłożach Serii S1
Table 4. Growth of mycelium and sporulation of *Trichoderma* isolates on the Series S1 media

Nazwa podłoża <i>Name of medium</i>	Nazwa izolatu <i>Trichoderma</i> <i>The name of Trichoderma isolate</i>									
	TRS 61		TRS 59		TRS 69		TRS 14		TRS 6	
	Średnica kolonii (cm) / zarodnikowanie (skala 0-5)									
I-S1	9,0	3,0 c	9,0	2,0 bc	9,0	1,0 c	9,0 a	1,0 ab	9,0 a	4,0 b
II-S1	9,0	0,5 a	9,0	4,0 ab	9,0	0 d	7,3 a	2,0 ab	0 c	0 d
III-S1	0	0 f	7,7	1,0 c	9,0	0 d	0 c	0 b	0 c	0 d
IV-S1	8,0	1,0 def	9,0	3,0 bc	9,0	1,0 c	1,8 bc	0,7 b	9,0 a	3,7 b
V-S1	3,5	0,0 f	6,3	0,7 c	9,0	0 d	1,3 bc	0,3 b	9,0 a	2,0 c
VI-S1	9,0	2,0 cde	9,0	2,7 bc	9,0	2,0 b	9,0 a	3,7 a	6,3 ab	2,0 c
VII-S1	8,0	2,0 def	6,0	2,5 bc	9,0	3,0 a	5,3 ab	2,0 ab	9,0 a	4,0 b
VIII-S1	9,0	0,7 ef	9,0	2,3 bc	9,0	3,0 a	9,0 a	2,0 ab	0 c	0 d
IX-S1	9,0	2,3 cd	9,0	5,0 a	9,0	3,0 a	9,0 a	3,7 a	9,0 a	5,0 a
X-S1	9,0	4,0 b	9,0	2,0 bc	9,0	3,3 a	0,7 c	0 b	4,3 b	0,3 d
XI-S1	9,0	1,0 def	8,0	1,7 bc	9,0	1,7 bc	5,3 ab	1,7 ab	9,0 a	4,3 b

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newman-Keulsa ($\alpha < 0,05$).

Liczby w kolumnach nieoznaczone literami nie różnią się istotnie.

2.2. Wzrost grzybów *Trichoderma* na podłożach Serii 2

W doświadczeniach przeprowadzonych w ramach serii 2 (tab. 5) analizowano wzrost i zarodnikowanie tych samych izolatów *Trichoderma* na pięciu podłożach organicznych. Składnikiem bazowym w dwóch podłożach była słoma pszenna moczona w wodzie wodociągowej przez 12 godz., natomiast w trzech - podłoże popieczarkowe. Składnikami dodatkowymi były odpady z marchwi i buraka. Grzyby *Trichoderma* bardzo dobrze rosły i zarodnikowały na wszystkich analizowanych podłożach tej serii (tab. 5).

Tabela 5. Wzrost grzybni i zarodnikowanie izolatów *Trichoderma* na podłożach Serii S2
Table 5. Growth of mycelium and sporulation of *Trichoderma* isolates on the Series S2 media

Nazwa podłoża <i>Name of medium</i>	Nazwa izolatu <i>Trichoderma</i> <i>The name of Trichoderma isolate</i>									
	TRS 61		TRS 59		TRS 69		TRS 14		TRS 6	
	Średnica kolonii (cm) / zarodnikowanie (skala 0-5)									
I-S2	9,0	5,0	9,0	4,0	9,0	3,0	9,0	5,0	9,0	5,0
II-S2	9,0	5,0	9,0	4,0	9,0	3,0	9,0	5,0	9,0	5,0
III-S2	9,0	5,0	9,0	5,0	9,0	4,0	9,0	5,0	9,0	5,0
IV-S2	9,0	5,0	9,0	5,0	9,0	4,0	9,0	5,0	9,0	5,0
V-S2	9,0	5,0	9,0	5,0	9,0	4,0	9,0	5,0	9,0	5,0

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newman-Keulsa ($\alpha < 0,05$).

Liczby w kolumnach nieoznaczone literami nie różnią się istotnie.

Wzrost grzybni wybranych izolatów na wszystkich testowanych podłożach nie różnił się wg testu Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$). Wybrane izolaty przerosły całkowicie podłoże po 9 dniach inkubacji w temperaturze 25°C.

2.3. Wzrost grzybów *Trichoderma* na podłożach Serii 3

W tej serii doświadczeń analizowano wzrost grzybów *Trichoderma* na dziesięciu podłożach organicznych z dodatkiem wód drenarskich z upraw bezglebowych (WD). Słomę pszenną moczone w tych wodach przez 18 godz., następnie odsączało i dodawano pozostałe składniki. Skład stosowanych podłoży przedstawiono w tabelach 1-3. Wody drenarskie zapewniały uzyskanie odpowiedniej wilgotności oraz dostarczały składników odżywczych. Izolaty *Trichoderma* w zróżnicowanym stopniu przerastały analizowane podłoża (tab. 6).

Najlepszy wzrost grzybni obserwowano na podłożach: IV-S3, VII-S3 i VIII-S3, na bazie słomy pszennej i podłoża popieczarkowego z dodatkiem wód drenarskich, wycłoczyn z rzepaku i odpadu z marchwi.

Tabela 6. Wzrost grzybni i zarodnikowanie izolatów *Trichoderma* na podłożach Serii S3

Table 6. Growth of mycelium and sporulation of *Trichoderma* isolates on the Series S3 media

Nazwa podłoża <i>Name of medium</i>	Nazwa izolatu <i>Trichoderma</i> <i>The name of Trichoderma isolate</i>									
	TRS 61		TRS 59		TRS 69		TRS 14		TRS 6	
	Średnica kolonii (cm) / zarodnikowanie (skala 0-5)									
I-S3	9,0 a	4,0 b	4,3 c	1,3 c	0 d	0 b	9,0 a	2,7 c	7,3 a	3,0 abc
II-S3	6,7 b	2,3 c	9,0 a	4,0 ab	0 d	0 b	8,3 a	2,7 c	9,0 a	5,0 a
III-S3	9,0 a	4,0 b	9,0 a	1,7 c	6,5 b	0 b	9,0 a	5,0 a	7,3 a	2,0 c
IV-S3	9,0 a	5,0 a	9,0 a	5,0 a	9,0 a	1,7 ab	9,0 a	5,0 a	9,0 a	3,7 abc
V-S3	9,0 a	1,0 d	0 d	0 c	9,0 a	2,3 a	3,3 b	0 e	8,0 a	2,3 bc
VI-S3	5,3 c	0 e	7,7 a	1,0 c	9,0 a	0 b	9,0 a	1,0 d	0 c	0 d
VII-S3	9,0 a	4,0 b	9,0 a	5,0 a	9,0 a	3,3 a	9,0 a	4,0 b	9,0 a	4,3 ab
VIII-S3	9,0 a	3,0 bc	9,0 a	3,0 b	9,0 a	2,7 a	9,0 a	4,7 a	9,0 a	5,0 a
IX-S3	9,0 a	3,7 b	9,0 a	4,0 ab	9,0 a	2,0 ab	9,0 a	3,7 b	8,3 a	3,0 abc
X-S3	7,0 b	1,0 d	3,0 b	0 c	5,7 c	0 b	5,0 ab	0 e	2,3 b	0 d

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$).

Liczby w kolumnach nieoznaczone literami nie różnią się istotnie.

Niektóre izolaty *Trichoderma* nie rosły na przygotowanych podłożach; np. *T. harzianum* TRS 69 na podłożu I-S3, które zawierało podłoże popieczarkowe, susz z buraka i WD, oraz na podłożu II-S3, zawierającym podłoże popieczarkowe i odpad z marchwi. Izolat TRS 59 nie rósł na podłożu V-S3, zawierającym słomę moczoną w WD, a izolat TRS 6 na podłożu VI-S3, zawierającym słomę moczoną w WD i wycłoczyny z rzepaku (tab. 6).

Najlepiej zarodnikowały izolaty *Trichoderma* TRS 61, TRS 14, TRS 59, TRS 6 na podłożach: IV-S3 z dodatkiem odpadu z marchwi i wycłoczyn z rzepaku, VII-S3, zawierającym podłoże popieczarkowe z dodatkiem wód drenarskich, oraz na podłożu VIII-S3, zawierającym słomę pszenną i podłoże popieczarkowe. Najślabszy wzrost i zarodnikowanie izolaty *Trichoderma* osiągnęły na podłożu X-S3, zawierającym zmieloną tekturę z dodatkiem WD. Grzyby *Trichoderma* nie zarodnikowały (lub bardzo słabo) także na podłożu VI-S3, zawierającym słomę pszenną moczona w WD i wycłoczyny z rzepaku. Spośród pięciu badanych izolatów wyróżniał się TRS 69, który w przeciwieństwie do pozostałych nie zarodnikował na podłożach, w których głównym składnikiem było podłoże popieczarkowe: I-S3 z dodatkiem suszu z buraka i WD, II-S3 z dodatkiem odpadu z marchwi, III-S3 z dodatkiem wycłoczyn z rzepaku i WD. Wzrost grzybni nie zawsze był skorelowany z intensywnością zarodnikowania, np. grzybnia izolatu TRS 69 dobrze rosła na podłożu VI-S3, natomiast w tych warunkach grzyb nie wytwarzał zarodników.

2.4. Wzrost grzybów *Trichoderma* na podłożach Serii 4

Składnikiem bazowym czwartej serii podłoży była słoma pszenna, moczona 24 godz. w wodach drenarskich z upraw bezglebowych (WD). Zastosowano następujące dodatki organiczne: odpad z marchwi, świeże liście kapusty, łuski cebuli, odpad z ziemniaka, susz z buraka, susz z marchwi oraz wycłoczyny z rzepaku (tab. 1).

Na wszystkich podłożach tej serii uzyskano intensywny wzrost grzybni wszystkich analizowanych izolatów *Trichoderma* (tab. 7). Grzyby przerosły całkowicie podłoże po 7 dniach inkubacji w temperaturze 25°C. Zarodnikowanie *Trichoderma* na tych podłożach było bardzo dobre.

Tabela 7. Wzrost grzybni i zarodnikowanie izolatów *Trichoderma* na podłożach Serii S4

Table 7. Growth of mycelium and sporulation of *Trichoderma* isolates on the Series S4 media

Nazwa podłoża <i>Name of medium</i>	Nazwa izolatu <i>Trichoderma</i> <i>The name of Trichoderma isolate</i>									
	TRS 61		TRS 59		TRS 69		TRS 14		TRS 6	
	Średnica kolonii (cm) / zarodnikowanie (skala 0-5)									
I-S4	9,0	5,0	9,0	4,7	9,0	4,0	9,0	4,3 ab	9,0	5,0
II-S4	9,0	5,0	9,0	5,0	9,0	5,0	9,0	5,0 a	9,0	5,0
III-S4	9,0	5,0	9,0	4,7	9,0	4,0	9,0	4,7 ab	9,0	5,0
IV-S4	9,0	5,0	9,0	5,0	9,0	4,7	9,0	4,3 ab	9,0	4,7
V-S4	9,0	5,0	9,0	4,7	9,0	4,3	9,0	4,0 ab	9,0	4,3
VI-S4	9,0	5,0	9,0	4,7	9,0	4,7	9,0	3,7 b	9,0	4,7

Liczby w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu Newmana-Keulsa ($\alpha < 0,05$).

Liczby w kolumnach nieoznaczone literami nie różnią się istotnie.

Przeprowadzone analizy fizyczne i chemiczne materiałów odpadowych zastosowanych w doświadczeniach wskazują, że wybrane do badań materiały odpadowe mogły być źródłem substancji odżywczych dla badanych grzybów (tab. 3).

3. Dyskusja

Przeprowadzone badania dotyczyły możliwości wykorzystania odpadów organicznych do produkcji podłoży, na których możliwy byłby wzrost grzybów z rodzaju *Trichoderma*. Do komponowania podłoży stosowano odpady, które będą mogły służyć jako nośniki mikroorganizmów antagonistycznych, a także znaleźć zastosowanie w uprawie roślin. W doświadczeniach wykorzystano izolaty grzybów należące do gatunków: *T. harzianum* i *T. atroviride*.

Celem prac było opracowanie podłoży, które umożliwiałyby intensywny wzrost i zarodnikowanie *Trichoderma*. W badaniach analizowano różne materiały odpadowe (tab. 1-3), które zapewniały tym grzybom zarówno odpowiednie składniki odżywcze, jak i właściwe warunki fizyczne, tj. wilgotność i dostęp tlenu. Podłoża zawierające odpadowe materiały organiczne były także wykorzystywane do hodowli *Trichoderma* przez innych badaczy. Najczęściej celem tych badań było wykorzystanie grzybów namnożonych na podłożach organicznych do produkcji związków chemicznych, mogących znaleźć zastosowanie w przemyśle. Kancelista i Witkowska [25] analizowały efektywność syntezy pozakomórkowych enzymów litycznych (celulaz i ksylanaz) przez grzyby rosnące na podłożach zawierających kaczany kukurydziane, wysłodki buraczane, suszoną trawę. Podłoża na bazie wysłodków buraczanych, makuchu rzepakowego i otrąb pszennych stosowano do hodowli *Aspergillus* sp. w celu produkcji enzymów pektynolitycznych i celulozylitycznych [26], natomiast wysuszoną serwatkę, wytloki jabłkowe i melasę do hodowli szczepów *Penicillium* sp. [27].

Wybierając odpady do kompozycji podłoży odpowiednich dla *Trichoderma*, autorzy kierowali się ich dostępnością, ponieważ tylko odpady produkowane w znacznej ilości będą mogły znaleźć zastosowanie w rolnictwie. Głównym składnikiem podłoży była słoma z różnych zbóż (pszenna, pszenżytnia, jęczmienna) oraz podłoże popieczarkowe. Słoma stosowana jako „baza” podłoży zapewniała korzystne warunki do wzrostu grzybów, ponieważ ze względu na swoją strukturę ułatwiała dostęp tlenu, o czym świadczy m.in. jej wysoka pojemność powietrzna (tab. 3).

Po przeprowadzeniu pierwszych doświadczeń okazało się, że nie można zastosować do podłoży dla *Trichoderma* słomy jęczmiennej, ponieważ jej dodatek hamował wzrost niemal wszystkich izolatów. Wiadomo, że w czasie rozkładu materii organicznej mikroorganizmy wytwarzają wiele związków chemicznych. W zależności od budowy mogą one stanowić źródło pokarmu dla nich lub działać szkodliwie. Znaczna liczba tych związków posiada właściwości toksyczne w stosunku do wielu mikroorganizmów [28, 29]. Jęczmień zawiera w swoim składzie alkaloidy - hordeinę i graminę [30]. Allelopatyczny efekt tych związków na rośliny jest udokumentowany. Nie można wykluczyć, że ich obecność wpływała toksycznie

na grzyby *Trichoderma*. Wyniki uzyskane w Serii I dawały podstawę do założenia, że słoma pszenna może być doskonałym składnikiem bazowym do komponowania podłoży dla tych grzybów, dlatego w pozostałych trzech seriach słoma ta stanowiła w wielu kombinacjach podstawę wytwarzanych mieszanek. Wzrost grzybów *Trichoderma* na materiałach organicznych, zawierających duże ilości węgla, ale mało innych związków mineralnych, zwłaszcza azotu, np. na słomie, podłożu popieczarkowym, tekturze, był bardzo słaby lub grzyby nie rozwijały się wcale. Konieczne było więc wzbogacenie podłoży w inny materiał organiczny, np. odpad z marchwi, buraka, odpad z ziemniaków, liście kapusty, łuski cebuli.

W przeprowadzonych doświadczeniach moczone słomę w wodzie wodociągowej lub w wodach drenarskich z upraw szklarniowych 18 lub 24 godz., ponieważ zapewniało to odpowiednie nawilżenie podłoża. Pobieranie składników odżywczych grzybów odbywa się w środowisku wilgotnym. Zwilżanie lub jedynie krótkie moczenie słomy nie zapewniało odpowiedniej wilgotności podłoży wzrostowych i w takich warunkach grzyby *Trichoderma* nie rosły (obserwacje autorów pracy). W prowadzonych badaniach, do zwiększania wilgotności zbyt suchych odpadów, stosowano także wody drenarskie pochodzące z upraw warzyw pod osłonami. Są to niewykorzystane przez rośliny pozostałości pożywek stosowanych do nawożenia roślin w czasie uprawy. Wobec coraz intensywniejszej uprawy roślin w tego typu systemach problem wykorzystania tych odpadów robi się także poważny. Uważa się, że w niektórych przypadkach do 40% dostarczonych roślinom składników mineralnych może być wydzielane na zewnątrz, często trafiając do wód gruntowych i zanieczyszczając środowisko. Wody drenarskie z upraw szklarniowych były bardziej odpowiednie do nawilżenia słomy niż woda wodociągowa, ponieważ zawierały większą ilość składników pokarmowych.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że izolaty *T. atroviride* TRS 6 i TRS 14 preferowały podłoża zawierające słomę pszenną moczoną w wodzie i odpad z marchwi (I-S2) oraz zawierające słomę pszenną i odpad z buraka (II-S2). Izolaty te dobrze rosły także na podłożach na bazie podłoża popieczarkowego z dodatkiem odpadu z marchwi lub odpadu z buraka. Korzystnym podłożem dla tych izolatów było również podłoże na bazie słomy pszennej moczonej w wodach drenarskich z dodatkiem wyciągu z rzepaku i liści kapusty.

Przeprowadzane doświadczenia wykazały różnice w intensywności wzrostu między dwoma izolatami gatunku *T. atroviride*. Stwierdzono, że izolat *T. atroviride* TRS 14 rósł na podłożach na bazie słomy pszenżytniej z dodatkiem wyciągu z rzepaku i otrąb pszennych (II-S1), na bazie słomy pszenżytniej z dodatkiem odpadu z marchwi (VIII-S1) oraz na podłożu zawierającym słomę pszenną moczoną w WD z dodatkiem wyciągu z rzepaku (VI-S3). Należący do tego samego gatunku *T. atroviride* izolat TRS 6 na tych podłożach miał całkowicie zahamowany wzrost.

Uzyskane wyniki wskazują, że izolaty *T. harzianum* dobrze rosły na podłożach zawierających w swoim składzie podłoże popieczarkowe z dodatkiem odpadu z marchwi (III-S2) czy z buraka (IV-S2), a także w podłożach zawierających te składniki jednocześnie. Izolaty te również dobrze rosły na podłożach na bazie słomy pszennej moczonej w wodach drenarskich. Także w przypadku tego gatunku

zaobserwowano różnice we wzroście i intensywności wytwarzania zarodników między izolatami. Izolat *T. harzianum* TRS 69 nie rósł na podłożach na bazie słomy pszenżytniej z dodatkiem wyciągu z rzepaku i otrąb pszennych (podłoże II-S1), w odróżnieniu od izolatów z tego samego gatunku, czyli *T. harzianum* TRS 61 i TRS 59, które dobrze rosły na tych podłożach. Odmienne zachowywał się także izolat TRS 59, który jako jedyny spośród szczepów *T. harzianum* nie namnażał się na podłożu zawierającym słomę pszeną moczona w wodach drenarskich.

Jak już wspomniano, w niektórych przypadkach wzrost grzybni nie był skorelowany z intensywnością wytwarzania zarodników. Przykładowo, izolat *T. harzianum* TRS 69 osiągał bardzo dobry wzrost grzybni na podłożu ze słomy moczona w wodach drenarskich i wyciągu z rzepaku (podłoże VI-S3), ale grzyb nie zarodnikował, mimo regularnego wystawiania szalek z testowanymi podłożami wzrostowymi na światło dzienne. Obecność światła stymuluje wytwarzanie zarodników przez grzyby. Brak wytwarzania zarodników przez grzyby jest cechą dyskwalifikującą podłoże jako nośnik *Trichoderma*.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że odpowiednio dobrane odpady organiczne z przemysłu rolno-spożywczego mogą służyć do wytwarzania podłoży używanych do namnożenia antagonistycznych grzybów z rodzaju *Trichoderma*. Należy jednak podkreślić, że aby uzyskać intensywne namnożenie i zarodnikowanie grzyba na wyselekcjonowanym podłożu, należy go dopasować indywidualnie do badanego szczepu.

Zastosowanie odpadów organicznych jako nośników grzybów antagonistycznych w stosunku do patogenów roślin stwarza korzyści dwójakiego rodzaju. Po pierwsze, może umożliwić wtórne zagospodarowanie odpadów uciążliwych dla środowiska naturalnego, a po drugie, zastosowanie w uprawach roślin podłoży zawierających antagonistyczne grzyby *Trichoderma* zwiększy populację korzystnych mikroorganizmów w glebie.

Wnioski

1. Izolaty *Trichoderma* dobrze rosły i zarodnikowały na podłożach zawierających w swoim składzie słomę pszeną moczona w wodach drenarskich, z upraw pod osłonami, wzbogaconą odpadami z marchwi, ziemniaka lub buraka, a także na podłożach popieczarkowych z dodatkiem odpadów z marchwi i buraka.
2. Szczepy *Trichoderma* różniły się intensywnością wzrostu grzybni i zarodnikowania na podłożach o tym samym składzie.
3. Dodatek słomy jęczmiennej do podłoża hamował wzrost i zarodnikowanie niemal wszystkich analizowanych szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma*.

Podziękowania

Badania były finansowane w ramach projektu pt. „Polskie szczepy Trichoderma w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych” współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego

w ramach Działania 1.3 Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.3.1, umowa nr: UDA-POIG.01.03.01-00129/9-07.

Literatura

- [1] Rosalak M., Gworek B., Stan i ocena gospodarki odpadami w Polsce, Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych 2006, 29, 71-84.
- [2] Pięta D., Pastucha A., Patkowska E., The role of the organic substances in the formation of communities of microorganisms, Ann. Agric. Sci. Series. E. Plant Prot. 1999, 28, 81-92.
- [3] Stachowiak B., Czarnecki Z., Trojanowska K., Gulewicz K., Possibilities of compost using in biological plant protection, J. Res. Appl. in Agric. Engng. 2006, 51(2), 171-177.
- [4] Dyrektywa Rady Unii Europejskiej 1999/31/WE z dnia 26 kwietnia 1999 r. w sprawie składowania odpadów, Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej 1999 r., L182/1, 228-246.
- [5] Jędrzak A., Biologiczne przetwarzanie odpadów, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2008.
- [6] Hermosa R., Viterbo A., Chet I., Monte E., Plant beneficial effects of *Trichoderma* and its genes, Microbiology 2012, 158, 1-25.
- [7] Benítez T., Rincón A.M., Limón M.C., Codón A.C., Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains, International Microbiology 2004, 7, 249-260.
- [8] Howell C.R., Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evaluation of current concepts, Plant Dis. 2003, 87, 4-10.
- [9] Smolińska U., Kowalska B., Grzyby z rodzaju *Trichoderma* - szansa w ochronie roślin czy złudna nadzieja? Nowości Warzywnicze 2008, 46, 39-50.
- [10] Vinale F., Sivasithamparan K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M., *Trichoderma* - plant - pathogen interactions, Soil Biology & Biochemistry 2008, 40, 1-10.
- [11] Elad Y., Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action, Crop Protection 2000, 19, 709-714.
- [12] Smolińska U., Kowalska B., Short test for the evaluation of the antagonistic activity of selected *Trichoderma* isolates, Bull. Polish Acad. Sci. Biol. Sci. 2003, 51(2), 133-137.
- [13] Smolińska U., Kowalska B., Oskiera M., The effectivity of *Trichoderma* strains in the protection of cucumber and lettuce against *Rhizoctonia solani*, Veg. Crops Res. Bull. 2007, 67, 81-93.
- [14] Bailey B.A., Lumsden R.D., Direct effects of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to pathogens, [in:] G.E. Harman, C.P. Kubicek (eds.), *Trichoderma* and *Gliocladium*, V. 2. Taylor & Francis, Ltd., London 1998, 185-204.
- [15] Druzhinina I.S., Seidl-Seiboth V., Herrera-Estrella A., Horwitz B.A., Kenerley C.M., Monte C.M., Mukherjee P.K., Zeilinger S., Grigoriev I.V., Kubicek C.P., *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success, Nat. Rev. Microbiol. 2011, 9, 749-759.
- [16] Fontenelle A.D.B., Guzzo S.D., Lucon C.M.M., Harakava R., Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp., Crop Protection 2011, 30, 1492-1500.
- [17] Harman G.E., Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22, Plant Dis. 2000, 84, 377-393.
- [18] Panahian Gh., Rahnama K., Jafari M., Mass production of *Trichoderma* spp. and application, Intl. Res. J. Appl. Basic Sci. 2012, 3, 292-298.
- [19] Chaverr P., *Hypocrea/Trichoderma*: species with conidiophore elongations and green conidia, Mycologia 2003, 95, 1100-1140.
- [20] Marcinkowska J., Oznaczenie rodzajów grzybów ważnych w patologii roślin, Wyd. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa 2003.

- [21] Sharma K., Kumar A., Misra R.S., Morphological, biochemical and molecular characterization of *Trichoderma harzianum* isolates for their efficacy as biocontrol agents, *J. Phytopathology* 2009, 157, 51-56.
- [22] Polska Norma PN-EN 13039. Środki poprawiające glebę i podłoża uprawowe. Oznaczenie zawartości substancji organicznej i popiołu, PKN, 2002.
- [23] Polska Norma PN-EN 13040. Środki poprawiające glebę i podłoża uprawowe. Przygotowanie próbki do analiz chemicznych i fizycznych, oznaczanie zawartości suchej masy, wilgotności oraz gęstości objętościowej próbki laboratoryjnie zagęszczonej, PKN, 2002.
- [24] Polska Norma PN-EN 13041. Środki poprawiające glebę i podłoża uprawowe. Oznaczenie właściwości fizycznych - gęstość objętościowa suchej próbki, pojemność powietrzna, pojemność wodna, kurczliwość i porowatość ogólna, PKN, 2002.
- [25] Kancelista A., Witkowska D., Biosynteza wybranych enzymów litycznych na podłożu zawierającym odpadki kaczany kukurydziane przez grzyby strzępkowe z rodzaju *Trichoderma*, *Acta Sci. Pol. Biotechnologia* 2008, 7, 17-25.
- [26] Frąc M., Pawlik A., Oszust K., Gryta A., Ocena aktywności pektynolitycznej środowiskowych szczepów *Aspergillus* sp. na wybranych podłożach indukcyjnych. Ogólnopolska Konferencja Naukowa Odpady organiczne - problemy i sposoby zagospodarowania, Falenty 20-21 września 2012, s. 33.
- [27] Ozimek E., Kurek E., Jaroszuk J., Słomka A., Materiały odpadowe przemysłu rolno-spożywczego wykorzystane jako składniki podłoży mikrobiologicznych do otrzymania konidiów szczepów z rodzaju *Penicillium* uruchamiających fosfor z różnych związków, Ogólnopolska Konferencja Naukowa Odpady organiczne - problemy i sposoby zagospodarowania, Falenty 20-21 września 2012, s. 52.
- [28] Grayer R.D., Harborne J.B., A survey of antifungal compounds from higher plants. 1982-1993, *Phytochemistry* 1994, 37, 19-42.
- [29] Wójcik-Wojtkowiak D., Politycka B., Schneider M., Perkowski J., Phenolic substances as allelopathic agents arising during the degradation of rye (*Secale cereale*) tissue, *Plant and Soil* 1990, 124, 143-147.
- [30] Liu D.L., Lovett J.V., Biologically active secondary metabolites of barley II - Phytotoxicity of barley allelochemicals, *J. Chem. Ecol.* 1993, 19, 2231-2244.

Waste Materials as Growing Media for Antagonistic *Trichoderma* Fungi

A growing problem with safe for the environment utilization of a variety of organic waste, arising during the production and processing of agricultural products, is a consequence of modernization and specialization of Polish agriculture. Objective of the research was to examine the growth and sporulation of selected isolates of *Trichoderma* fungi on organic media, composed from a variety of waste materials. In experiments the isolates of *Trichoderma harzianum* isolates TRS 61, TRS 59, TRS 69 and *T. atroviride* TRS 14, TRS 6 were used. Components used for the production of organic substrates were waste materials from farms, from the vegetable-processing industry and household appliances. It was found that the analyzed fungal isolates of *Trichoderma* best grew and sporulated on the media containing wheat straw soaked in waste nutrient solution (WD) obtained from soilless culture system with the addition of carrot, potato or beetroot waste and on media containing substrate after cultivated mushrooms with carrot and beetroot waste. The results obtained in this work show that it is possible the use of a variety of organic wastes as carriers of antagonistic microorganisms, that could be used to grow plants.

Keywords: *Trichoderma*, organic waste, growth media, sporulation