

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **227586**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **402840**

(22) Data zgłoszenia: **20.02.2013**

(51) Int.Cl.
C05F 11/08 (2006.01)
C05F 5/00 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)

(54) **Podłoże do uprawy roślin, sposób przygotowania podłoża
oraz zastosowanie podłoża do namnażania grzyba z rodzaju *Trichoderma***

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
01.09.2014 BUP 18/14

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
31.01.2018 WUP 01/18

(73) Uprawniony z patentu:

INSTYTUT OGRODNICTWA, Skierniewice, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

URSZULA SMOLIŃSKA, Sochaczew, PL
BEATA KOWALSKA, Skierniewice, PL
MAGDALENA SZCZECH, Skierniewice, PL
WALDEMAR KOWALCZYK, Skierniewice, PL

PL 227586 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest podłoże do uprawy roślin, sposób przygotowania podłoża oraz zastosowanie podłoża do namnażania grzyba z rodzaju *Trichoderma*.

Znane są podłoża do uprawy roślin zawierające zmieszane ze sobą w różnych proporcjach rozdrobnione składniki organiczne, m.in. węgiel brunatny, torf, korę drzew iglastych, trociny drzew iglastych, słomę, minerały, nawozy mineralne, odpady bawełniane, paździerze konopne, a także różne szczepy bakterii.

Znane jest z polskiego opisu patentowego nr PL 139 696 „Podłoże do uprawy roślin”, które zawiera popiół węgla brunatnego w ilości 1,5–2,5% wagowych oraz węglan wapniowy granulowany w ilości 1–2% wagowych, a nadto 40–50% wagowych węgla brunatnego, 15–20% wagowych torfu oraz 2–3% wagowych nawozu mineralnego, składającego się z nawozu fosforowego, korzystnie superfosfatu, nawozu azotowego, korzystnie azotanu amonowego, nawozu azotowego o przedłużonym działaniu, korzystnie mocznika na nośniku polimerowym, nawozu potasowego, korzystnie siarczanu potasowego oraz nawozu potasowego o przedłużonym działaniu, korzystnie siarczanu potasowego na nośniku polimerowym, a ponadto w nawozie mineralnym określono stosunki wagowe azotu, fosforu i potasu jak 1:1,5–3:1,5–3, najkorzystniej przy układzie 1:2:2, przy zachowaniu stosunku wagowego składnika azotowego do składnika azotowego o przedłużonym działaniu jak 1:10 oraz składnika potasowego do składnika potasowego o przedłużonym działaniu jak 1:4.

Znane jest z polskiego opisu patentowego nr PL 189 956 „Podłoże do uprawy roślin ozdobnych kwaśnolubnych”, zawierające biohumus rozdrobniony o granulacji do 5 mm, korę sosnową przekompostowaną rozdrobnioną o granulacji do 5 mm, poliakryloamid usieciowany hydrolizowany, siarczan amonu, sól potasową, węgiel brunatny rozdrobniony o granulacji do 5 mm, torf rozdrobniony, superfosfat potrójny, siarczan manganowy, siarczan żelazawy oraz piasek.

Znany jest z polskiego opisu patentowego nr PL 191 524 „Wieloskładnikowy nawóz organiczny i/lub podłoże dla rozsadników”, zawierający węgiel brunatny, torf, korę oraz zeolity, który w każdym 100 częściach wagowych zawiera składniki podzielone na sześć grup rodzajowych:

- a) od 10 do 65 części wagowych, lecz najkorzystniej 19 części wagowych, węgla brunatnego ziemistego, mającego granulację utrzymywaną w przedziale od 0,01 do 1,5 mm, lecz najkorzystniej wynoszącą poniżej 0,5 mm, lub od 8 do 65 części wagowych, lecz najkorzystniej 19 części wagowych węgla brunatnego grubego, mającego granulację utrzymywaną w przedziale od 1 do 20 mm, lecz najkorzystniej wynoszącą poniżej 5 mm, lub od 7 do 65 części wagowych, lecz najkorzystniej 19 części wagowych mieszaniny węgla brunatnego grubego i węgla brunatnego ziemistego, użytych w dowolnym wzajemnym stosunku procentowym;
- b) od 10 do 60 części wagowych, lecz najkorzystniej 19 części wagowych, torfu wysokiego, o granulacji nie przekraczającej 15 mm, lub torfu niskiego czarnego, o granulacji nie przekraczającej 2 mm, lub od 8 do 50 części wagowych, lecz najkorzystniej 19 części wagowych mieszaniny torfu niskiego czarnego i torfu wysokiego, użytych w dowolnym wzajemnym stosunku procentowym i o granulacji nie przekraczającej 2 mm;
- c) od 5 do 50 części wagowych, lecz najkorzystniej 19 części wagowych, kory iglastej surowej, nie kompostowanej, mającej pH nie przekraczające 4,5 i/lub kory iglastej kompostowanej beztlenowo skarbonizowanej, mającej pH nie przekraczające 5,5;
- d) od 5 do 30 części wagowych, lecz najkorzystniej 19 części wagowych, mieszaniny użytych w dowolnym wzajemnym stosunku procentowym trocin i/lub wiórów, i/lub skratków drewnianych, otrzymanych z wiatrołomów różnogatunkowych drzew leśnych i z przeróbki różnogatunkowego chemicznie nie obrabianego drewna w zakładach przemysłu drzewnego, mających granulację utrzymywaną w przedziale od 0,1 do 15 mm, lecz najkorzystniej nie przekraczającą 8 mm;
- e) od 0,5 do 15 części wagowych, lecz najkorzystniej 5 części wagowych, zeolitu surowego i/lub zeolitu nasyconego składnikami pokarmowymi, mających granulację utrzymywaną w przedziale od 1 do 10 mm, lecz najkorzystniej wynoszącą od 7 do 8 mm;
- f) od 2 do 20 części wagowych, lecz najkorzystniej 7 części wagowych, kredy mielonej, granulowanej do wielkości ziaren nie większych jak 6 mm i/lub kredy mielonej do postaci mączki, o wielkości ziaren nie większych jak 0,5 mm; oraz ewentualnie od 10 do 40 części wagowych, lecz najkorzystniej 15 lub 30 części wagowych, mieszaniny ligniny

i włókien celulozowych stanowiących odpad z zakładów celulozowo-papierniczych, kompostowanych beztlenowo – skarbonizowanych, użytych w dowolnym stosunku procentowym, mających granulację utrzymywaną w przedziale od 1 do 10 mm, lecz najkorzystniej wynoszącą 4 do 6 mm.

Znany jest z polskiego opisu patentowego nr PL 197 594 „Nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników”, zawierający węgiel brunatny, torf, korę, który zawiera od 10 części wagowych do 80 części wagowych węgla brunatnego, od 0,5 części wagowych do 6,5 części wagowych użytej w dowolnym wzajemnym stosunku mieszaniny trocin, wiórów i skratek drzew leśnych, od 1 części wagowych do 18 części wagowych montmorylonitu i/lub bentonitu, od 1,5 części wagowych do 10 części wagowych wapieni organicznych i/lub kredy granulowanej, od 7 części wagowych do 25 części wagowych skały lub minerału wybranych z grupy: kaolonitu, kainitu, fosforytów, sproszkowanego bazaltu, nitrokalitytu, nitronatrytu lub ich mieszanin, od 6,5 części wagowych do 19 części wagowych co najmniej dwóch rodzajów bakterii wybranych z grupy: azotobakterii, fosforobakterii, endofitycznych bakterii diazotroficznych, nitraginy, nitrozobakterii, nitrobakterii, rhizobium, bradyrhizobium, azospirillum, bacillus thurinae i herbaspirillum seropedicae, oraz ewentualnie: od 0,1 części wagowych do 2,5 części wagowych torfu wysokiego i/lub kory mieszanej drzew leśnych, od 0,05 części wagowych do 0,5 części wagowych ligniny papierniczej i karbonizowanej, od 0,5 części wagowych do 4,5 części wagowych soli kamiennej, od 2,5 części wagowych do 16 części wagowych siarki granulowanej lub mielonej i od 1 części wagowych do 17 części wagowych siewki sporządzonej z użytych w dowolnym wzajemnym stosunku mieszaniny słomy zbożowej i słomy roślin strączkowych, przy czym nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników zawiera węgiel brunatny w postaci mielonej do wielkości cząstek nie większych jak 12 mm, lecz najkorzystniej utrzymywanej w przedziale od 3 mm do 8 mm, przy czym nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników zawiera torf wysoki w postaci mielonej do wielkości cząstek nie większych jak 12 mm, lecz najkorzystniej utrzymywanej w przedziale od 3 mm do 8 mm, przy czym nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników zawiera korę drzew leśnych w postaci mielonej do wielkości cząstek nie większych jak 12 mm, lecz najkorzystniej utrzymywanej w przedziale od 3 mm do 8 mm, oraz korzystnie poddaną uprzednio kompostowaniu naturalnemu trwającemu przez efektywny okres nie krótszy jak 12 miesięcy, przy czym nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników zawiera trociny i/lub wióry i/lub skratki z drzew leśnych jako dowolną mieszankę w postaci mielonej do wielkości cząstek nie większych jak 12 mm, lecz najkorzystniej utrzymywanej w przedziale od 3 mm do 8 mm, oraz korzystnie poddaną uprzednio kompostowaniu naturalnemu trwającemu przez efektywny okres nie krótszy jak 12 miesięcy, przy czym nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników zawiera ligninę papierniczą i ligninę karbonizowaną w postaci granulowanej lub ciętej na włókna o długości nie przekraczającej 12 mm, przy czym nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników zawiera montmorylonit i/lub bentonit w postaci zmielonej do wielkości ziaren nie przekraczającej 20 mm, lecz najkorzystniej utrzymywanej w przedziale od 5 mm do 10 mm, przy czym nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników zawiera wapienie organiczne, jako mieszankę wapieni poprodukcyjnych w procesach przemysłowego otrzymywania materiałów budowlanych, z przemysłu ceramicznego i syntezy chemicznej kwasów nieorganicznych, przy czym nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników zawiera siewkę sporządzoną z użytych w dowolnym wzajemnym stosunku mieszaniny słomy zbożowej i słomy roślin strączkowych, w postaci cząstek nie dłuższych jak 18 mm, lecz najkorzystniej utrzymywanych w przedziale od 8 mm do 12 mm, zwłaszcza poddaną uprzednio kompostowaniu naturalnemu trwającemu przez efektywny okres nie krótszy jak 12 miesięcy, przy czym nawóz organiczno-mineralny lub podłoże dla rozsadników zawiera szczepy bakterii w postaci roztworów wodnych, wysuszy lub granulatów otrzymywanych zwłaszcza przez ekstrakcję rozpuszczalnikową lub osmozę ze szlamów czynnych osadnikowych z oczyszczalni biologicznych ścieków komunalnych.

Znane jest z polskiego opisu patentowego nr PL 204 941 „Bezglebowe podłoże do upraw”, zawierające rozdrobnioną słomę żytnią lub pszeną oraz rozdrobnioną korę drzew iglastych, trociny drzew iglastych i torf, przy czym z czterech składników w postaci grubo rozdrobnionej żytniej lub pszennej słomy, rozdrobnionej drobno kory drzew iglastych, trocin drzew iglastych i torfu wykonuje się zamiennie mieszaniny: słoma grubo rozdrobniona i drobno rozdrobniona kora drzew iglastych albo słoma grubo rozdrobniona i trociny drzew iglastych, albo słoma grubo rozdrobniona i torf, albo słoma grubo rozdrobniona oraz drobno rozdrobniona kora drzew iglastych i trociny drzew iglastych, albo słoma grubo rozdrobniona oraz drobno rozdrobniona kora drzew iglastych i torf, albo słoma grubo rozdrobniona oraz trociny drzew iglastych i torf, albo mieszanina ze wszystkich czterech składników,

przy czym w każdej mieszance słoma stanowi 50–70% objętościowych, zaś w mieszance trójskładnikowych składniki uzupełniające słomę stanowią sumarycznie 30–50% objętościowych z tym, że w ramach każdej z sum ilości składników uzupełniających słomę zmieniają się w granicach stosunków 1:1 do 1:3 zamiennie, a w mieszance czteroskładnikowej składniki uzupełniające słomę stanowią każdy po 10–16,6% objętościowych, przy czym każdą mieszance konfekcjonuje się w operacji zagęszczania w prostopadłościennych balotach o szerokości 150–250 mm długości korzystnie do 1500 mm i grubości 50–75% szerokości balotu, zaś otwory na górnej ścianie foliowego rękawa mają średnicę mniejszą o 30–50% szerokości balotu, a ścianki boczne i szczytowe od góry do połowy wysokości są perforowane, przy czym operację zagęszczania przeprowadza się do uzyskania gęstości objętościowej balotu w granicach 0,48–0,66 g/cm³.

Znany jest z polskiego zgłoszenia patentowego P.319551 sposób hodowli grzybni handlowej bocznika, zgodnie z którym grzybnię bocznika namnaża się, korzystnie w workach foliowych, na zaszczerpionym grzybnią wysterylizowanym podłożu, korzystnie na odpadach bawełnianych. Rozwiązanie charakteryzuje się tym, że na dwóch przeciwległych końcach rękawa foliowego wypełnionego wysterylizowanym podłożem umieszcza się fragmenty grzybni, po czym końce rękawa zawiązuje się tak, by powstały woreczek miał na każdym końcu otwór dla swobodnego dostępu powietrza atmosferycznego do wnętrza woreczka wyłącznie poprzez warstwę grzybni. Sposób uprawy bocznika, korzystnie w workach foliowych na podłożu, korzystnie na odpadach bawełnianych, charakteryzuje się tym, że grzybnię handlową bocznika umieszcza się w worku foliowym warstwami naprzemiennie z co najmniej jedną warstwą podłoża, przy czym jako warstwy skrajne stosuje się warstwy grzybni. Oba końce rękawa zawiązuje się szczelnie, a następnie wykonuje się w obszarze skrajnych powierzchni worka mikrootwory, przez które powietrze atmosferyczne będzie miało dostęp wyłącznie do warstwy grzybni.

Znane jest z polskiego opisu patentowego nr PL 212 448 „Podłoże do uprawy bocznika”, które stanowi naturalny kompozyt w postaci paździerzki konopnych, przy czym paździerzki konopne są zawarte w ilości pomiędzy 100 a 20% w stosunku do całkowitej masy podłoża, a także podłoże zawiera mieszankę paździerzki konopnych ze słomą zbożową w stosunku zawartym w przedziale od 0 do 80% słomy zbożowej oraz ok. 100–20% paździerzki konopnych, a także paździerzki konopi uzyskiwane są szczególnie metodą dekortykacji, a także uwodnienie składników podłoża wynosi do 70% wilgotności i podłoże zakażane jest mieszanką grzybni bocznika w stosunku 3–5% suchej masy podłoża. Z tego samego opisu patentowego znany jest sposób hodowli grzybni bocznika, zgodnie z którym grzybnię bocznika namnaża się, korzystnie w workach, na zaszczerpionym grzybnią wysterylizowanym podłożu, charakteryzujący się tym, że podłoże stanowi naturalny kompozyt w postaci paździerzki konopnych, przy czym paździerzki konopne są zawarte w ilości pomiędzy 100 a 20% w stosunku do całkowitej masy podłoża, gdzie paździerzki konopi uzyskuje się szczególnie metodą dekortykacji, po czym paździerzki konopne lub mieszankę paździerzki konopnych ze słomą zbożową miesza się w stosunku zawartym w przedziale od 0 do 80% słomy zbożowej oraz około 100–20% paździerzki konopnych, a następnie składniki podłoża uwadnia się do 70% wilgotności, nawilżone podłoże pasteryzuje się przy temperaturze zawartej pomiędzy 55 a 65°C przez 24–48 godzin, po czym podłoże zakaża się mieszanką grzybni bocznika w stosunku 3–5% suchej masy podłoża, pozostawiając je do czasu przerastania w temperaturze około 25°C przez okres 8 do 20 dni, a następnie podłoże konfekcjonuje się w worki uprawowe. Z tego samego opisu patentowego znane jest zastosowanie paździerzki konopnych do wytwarzania podłoża do uprawy bocznika, przy czym paździerzki konopne są zawarte w ilości pomiędzy 100 a 20% w stosunku do całkowitej masy podłoża, a także podłoże zawiera mieszankę paździerzki konopnych ze słomą zbożową w stosunku zawartym w przedziale od 0 do 80% słomy zbożowej oraz ok. 100–20% paździerzki konopnych, a także paździerzki konopi uzyskiwane są szczególnie metodą dekortykacji, przy czym uwodnienie składników podłoża wynosi do 70% wilgotności i podłoże zakażane jest mieszanką grzybni bocznika w stosunku 3–5% suchej masy podłoża.

Znacząco wzrasta świadomość związana z zagrożeniami płynącymi z nadmiernego stosowania substancji chemicznych w rolnictwie. Poszukiwane są artykuły rolne uzyskiwane metodami bezpiecznymi dla środowiska przy jak najmniejszym stosowaniu syntetycznych środków ochrony roślin. Rośnie też popyt na tzw. zdrową żywność produkowaną z wykorzystaniem metod biologicznych, wśród nich coraz częściej z wykorzystaniem wyselekcjonowanych mikroorganizmów, w tym grzybów z rodzaju *Trichoderma* (Elad Y., 2000; Howell 2004; Vinale 2006). Grzyby z rodzaju *Trichoderma* występują na różnych szerokościach geograficznych. Żyją w glebie, na powierzchni korzeni roślin, a niektóre szczepy mogą penetrować nawet w głąb korzeni. Są saprotrofami zasiedlającymi martwą materię organiczną.

Mogą wykazywać także właściwości pasożytnicze, pasożytując na innych grzybach. Dzięki szybkiemu wzrostowi i możliwości wykorzystywania wielu związków, jako źródła pokarmu, są jednymi z pierwszych grzybów zasiedlających gleby i podłoża po fumigacji. Ekspansywność tych grzybów wynika także z faktu, że są silnie konkurencyjne w stosunku do innych mikroorganizmów zasiedlających środowisko glebowe. Grzyby z rodzaju *Trichoderma* są organizmami cudzożywnymi, czyli nie są zdolne do samodzielnej syntezy związków organicznych węgla. Muszą je czerpać w gotowej postaci ze środowiska, najczęściej w postaci cukrów prostych i wielocukrów. Jako źródło azotu wykorzystują jony azotanowe, amoniak i niektóre aminokwasy. Składniki pokarmowe, np. węglowodany czy jony, są pobierane całą powierzchnią strzępek, a transport następuje przez błony cytoplazmatyczne. Złożone polimery, np. celuloza, chityna, lignina, aby mogły być wykorzystane przez grzyby, muszą być enzymatycznie rozłożone na monomery. Rozkład następuje poprzez wydzielane na zewnątrz enzymy lityczne, np. celulazy, chitynazy, amylazy, enzymy pektolityczne, czy należące do kompleksu rozkładającego ligniny. Także złożone związki azotu, jak peptydy i białka, są wykorzystywane po rozłożeniu przez zewnątrzkomórkowe proteazy do aminokwasów. Rodzaj oraz ilość enzymów wydzielanych przez dany izolot grzyba zależą od substratu (materiału), na którym rośnie grzyb i są regulowane przez produkt końcowy. Grzyby z rodzaju *Trichoderma* przewyższają inne grzyby efektywnością wykorzystania związków odżywczych pochodzących z otaczającego je środowiska. Najprawdopodobniej związane jest to ze zdolnością do wykorzystywania wielu różnych związków jako źródła węgla, w tym trudno dostępnych dla innych organizmów polimerów, np. celuloza, glukan i chityna.

Za zjawisko to odpowiedzialne są liczne pozakomórkowe enzymy degradujące te związki.

Środki produkowane na bazie grzybów z rodzaju *Trichoderma* mogą znaleźć największe zastosowanie w produkcji ekologicznej i integrowanej oraz w przypadku trudnych do zwalczania chorób. Mogą też przyczynić się do skrócenia okresu przerw w uprawie.

Od wielu lat w rolnictwie stosowane są szczepionki mikrobiologiczne na bazie różnych mikroorganizmów. Niestety ich skuteczność jest często niewielka ze względu na stosunkowo małą liczebność wprowadzanego antagonisty w porównaniu do całej masy drobnoustrojów zasiedlających glebę. Mikroorganizmy wprowadzane w postaci szczepionek zwykle nie żyją długo ze względu na intensywną konkurencję o pokarm ze strony innych drobnoustrojów. Najczęściej mikroorganizmy te wprowadzane są do gleby w niewielkich ilościach na nośnikach takich jak torf, talk lub węgiel brunatny.

Korzystne jest wprowadzanie mikroorganizmów antagonistycznych do gleby na substancji organicznej, która odpowiednio skomponowana będzie dodatkowo, w dłuższym okresie czasu od wprowadzenia, stymulowała ich rozwój. Celem wynalazku jest opracowanie podłoża do namnażania grzybów z rodzaju *Trichoderma* na bazie wybranych odpadów z przemysłu rolno-spożywczego, których skład i struktura będą stymulowały rozwój grzybów.

Przedmiotem wynalazku jest podłoże do uprawy roślin charakteryzujące się tym, że zawiera wysuszone łuski cebuli, wysuszone wyłoczyny z jabłka, wysuszone wyłoczyny z truskawki oraz wysuszone wyłoczyny z rzepaku zmieszane ze sobą w stosunku 1:1:1:1.

Korzystnie, gdy łuski cebuli są rozdrobnione na cząstki o długości od 0,2 do 0,5 cm.

Korzystnie, gdy wysuszone łuski cebuli, wysuszone wyłoczyny z jabłka, wysuszone wyłoczyny z truskawki oraz wysuszone wyłoczyny z rzepaku są zmieszane ze sobą z dodatkiem wody w stosunku 1 dm³ wody na 40 dm³ mieszanki oraz poddane granulacji.

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest sposób przygotowania podłoża do uprawy roślin polegający na tym, że wysuszone łuski cebuli, wysuszone wyłoczyny z jabłka, wysuszone wyłoczyny z truskawki oraz wysuszone wyłoczyny z rzepaku miesza się ze sobą, korzystnie w stosunku 1:1:1:1, następnie dodaje się wodę, korzystnie w ilości 1 dm³ wody na 40 dm³ mieszanki, miesza się wszystkie składniki do uzyskania masy o jednolitej konsystencji, następnie w czasie korzystnie do 3 godzin po wymieszaniu uzyskaną masę poddaje się granulacji, po czym uzyskany granulaturę suszy się w temperaturze 20–25°C przez okres do 10 dni.

Kolejnym przedmiotem wynalazku jest zastosowanie podłoża do uprawy roślin określonego powyżej do namnażania grzyba z rodzaju *Trichoderma*.

Korzystnie namnażanie grzyba z rodzaju *Trichoderma* przeprowadza się na podłożu umieszczonym w perforowanych workach, korzystnie polipropylenowych.

Korzystnie podłoże w workach zwilża się wodą.

Korzystnie do zwilżonego podłoża dodaje się uzyskaną w dowolny sposób wodną zawiesinę zarodników grzyba *Trichoderma*.

Korzystnie podłoże zawierające zawiesinę zarodników grzyba *Trichoderma* inkubuje się w temperaturze 18–26°C przez okres 12–16 dni.

Poniżej przedstawiono przykład realizacji wynalazku.

Przykład 1

Etap 1. Przygotowanie podłoża

Wysuszone łuski cebuli, wysuszone wycłoczyny z jabłka, wysuszone wycłoczyny z truskawki oraz wysuszone wycłoczyny z rzepaku zmieszano ze sobą w mieszalniku w stosunku 1:1:1:1, następnie dodano wody w ilości 1 dm³ wody na 40 dm³ mieszanki, zmieszano wszystkie składniki do uzyskania masy o jednolitej konsystencji, następnie w ciągu 3 godzin po wymieszaniu uzyskaną masę poddano granulacji, po czym uzyskany granulat suszono w temperaturze 25°C przez okres 10 dni.

Przed mieszaniem zbadano skład chemiczny dwóch partii poszczególnych składników podłoża. Wyniki przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1
Skład chemiczny składników podłoża

Materiał	partia	Zawartość ogólna (% s.m.)						
		N	P	K	Ca	Mg	Na	S
Wycłoczyny z rzepaku	1	6,10	0,96	1,44	0,92	0,55	0,03	0,62
	2	5,20	0,82	1,23	0,77	0,50	-	-
Wycłoczyny z jabłek	1	1,19	0,12	0,39	0,17	0,07	0,05	0,10
	2	1,57	0,12	0,60	0,35	0,13	0,01	0,12
Łuski z cebuli	1	0,96	0,12	1,02	1,73	0,33	0,01	0,13
	2	-	-	-	-	-	-	-
Wycłoczyny z truskawki	1	2,71	0,32	0,29	0,49	0,15	0,04	0,18
	2	2,99	0,31	0,37	0,47	0,14	0,007	0,21

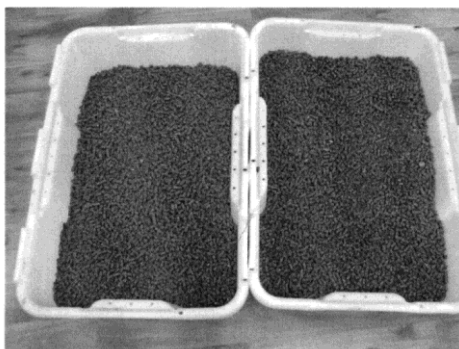
Materiał	partia	Zawartość ogólna (mg/kg)				
		Fe	Mn	Cu	Zn	B
Wycłoczyny z rzepaku	1	295,0	65,2	10,8	67,5	29,6
	2	139,0	65,6	12,3	73,7	42,3
Wycłoczyny z jabłek	1	1089,7	17,6	19,3	21,4	36,1
	2	396,0	15,1	15,5	16,7	45,7
Łuski z cebuli	1	4992,0	126	48,5	49,2	45,4
	2	-	-	-	-	-
Wycłoczyny z truskawki	1	609,0	65,7	16,3	29,7	23,5
	2	448,0	64,8	13,7	21,1	21,5
Materiał	partia	Właściwości fizyczne				
		% s.m.	% organiki	% popiołu	C og. (%)	
Wycłoczyny z rzepaku	1	90,0	73,2	26,8	36,6	
	2	-	-	-	-	
Wycłoczyny z jabłek	1	91,4	79,0	21,0	39,4	
	2	88,7	94,4	5,57	47,0	
Łuski z cebuli	1	93,1	52,9	47,1	26,4	
	2	-	-	-	-	
Wycłoczyny z truskawki	1	93,5	68,1	31,9	34,0	
	2	92,8	92,3	7,74	46,1	

Następnie zbadano skład chemiczny trzech partii gotowego podłoża (wytworzonego w różnych terminach). Wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2
Skład chemiczny podłoża

Partia	Zawartość ogólna (% s.m.)						
	N	P	K	Ca	Mg	Na	S
1	3,35	0,32	1,34	0,89	0,27	0,04	0,22
2	3,58	0,53	0,87	0,72	0,33	0,01	0,44
3	3,00	0,41	0,73	0,73	0,26	0,01	0,28
Partia	Zawartość ogólna (mg/kg)						
	Fe	Mn	Cu	Zn	B		
1	1380	68,6	10,6	42,5	8,92		
2	995	59,9	13,0	48,1	49,8		
3	1668	68,4	20,3	51,8	39,4		
Partia	Właściwości fizyczne						
	% s.m.	% organiki	% popiołu	C og. (%)			
1	88,7	66,0	34,0	33,0			
2	88,2	70,3	29,7	35,1			
3	87,9	64,6	35,3	32,3			

Badanie składu chemicznego przeprowadzono metodami ekstrakcji makroskładników rozpuszczalnych w 2% kwasie octowym (N, P, K, Ca, Mg), mineralizacji mikrofalowej w stężonym kwasie azotowym w układzie zamkniętym (P, K, Ca, Mg, Na, S, Cl, Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo) i mineralizacji w stężonym kwasie siarkowym (N ogólny). Analizowane składniki mineralne oznaczano metodami spektrometrii plazmowej, absorpcji atomowej oraz metodami kolorymetrycznymi, tzw. segmented flow system. Właściwości fizyczne materiałów organicznych określano zgodnie z procedurami według norm PN-EN 1339, PN-EN 1340, PN-EN 1341 przy wykorzystaniu aparatu piaskowo/kaolinowego Eijkelkamp, suszarki i pieca do spalań (C, zawartość popiołu).



Fot. 1. Gotowe podłoże

Etap 2. Wytwarzanie zarodników grzybów *Trichoderma*

Aby uzyskać zarodniki grzybów *Trichoderma*, mały fragment grzybni wszczepiono na agarową pożywkę ziemniaczaną PDA (Merck), umieszczoną na szalkach Petriego (9 cm). Po 5–7 dniach wzrostu w temperaturze 25°C powierzchnia pożywki pokryła się grzybnią z zarodnikami. W celu uzyskania wodnej zawiesiny zarodników, na powierzchnię wylano 50 ml sterylnej wody i zeszkrobano zarodniki z grzybnią. Uzyskano zawiesinę zawierającą, w zależności od izolatu grzyba, ok. 10^7 – 10^8 zarodników w 1 ml.

Sposób uzyskania zarodników może być dowolny, nie ma bowiem wpływu na wzrost grzybów *Trichoderma* w omawianym podłożu.

Etap 3. Namnażanie grzybów *Trichoderma*

Namnażanie grzybów *Trichoderma* na podłożu przeprowadzono w perforowanych workach polipropylenowych o wymiarach 15x20 cm oraz 40x70 cm. W mniejszych workach umieszczono po 380 ml podłoża, natomiast w większych workach po 5 dm³ i 10 dm³. Do worków wsypano podłoże, które zwilżono wodą w ilości 150 ml na 1 dm³ podłoża. Następnie do podłoża dodano zawiesinę zarodników grzyba *Trichoderma* w ilości 5 ml na 1 dm³ podłoża. Wykorzystane izolaty *Trichoderma atroviride* TR43 oraz *Trichoderma atroviride* TR59 zawierały odpowiednio w 1 ml zawiesiny $10,4 \times 10^7$ i $10,3 \times 10^7$ zarodników. Liczebność zarodników oznaczono przy pomocy mikroskopu świetlnego Olympus, licząc odpowiednie rozcieńczenia w komorze Thoma. Po zaszczepieniu podłoże inkubowano w temperaturze 20°C przez okres 14 dni. Bezpośrednio po inokulacji podłoża zawiesiną zarodników grzybów *Trichoderma* wykonano mikrobiologiczną analizę podłoża w celu określenia „startowej” zawartości jednostek propagacyjnych

w podłożach. Ocenę liczebności grzyba wykonano metodą posiewów odpowiednio rozcieńczonej zawiesiny na pożywkę Martina (1950) lub pożywkę selektywną ST (Chung i Hoitink 1990). Po 5-dniowej inkubacji w temp. 25°C policzono wyrosnięte kolonie grzybów *Trichoderma*. Poniżej przedstawiono ilości jednostek propagacyjnych grzybów *Trichoderma* zastosowanych do inokulacji podłoża, przedstawionych jako jtk (jednostki tworzące kolonie) *Trichoderma* w 1 g suchej masy podłoża (s.m.):

- 1) podłoże bez inokulacji – 0,
- 2) podłoże + *T. atroviride* TR43 – $6,5 \times 10^5$ w 1 g s.m. podłoża,
- 3) podłoże + *T. atroviride* TR59 – $3,9 \times 10^5$ w 1 g s.m. podłoża.

Po 14-dniowym okresie inkubacji określono intensywność namnażania się grzybów *Trichoderma* w podłożu. Ocenę przeprowadzono wizualnie oraz wysiewając próby przerośniętych granulatów na pożywkę agarowe Martina (1950) lub selektywne ST (Chung i Hoitink 1990). Wizualna ocena intensywności zarodnikowania grzybów przerastających granulaty polegała na przyporządkowaniu punktu w skali 0–5, gdzie 0 oznaczało brak wzrostu, a 5 powierzchnię w 100% pokrytą zarodnikującą grzybnią. Powierzchnia podłoża przybrała kolor różnych odcieni zieleni, w zależności od zastosowanego izolatu *Trichoderma* (tabela 3, fot. 2, fot. 3). Analizę liczebności form propagacyjnych grzybów *Trichoderma* w podłożu pod koniec inkubacji wykonywano także metodami posiewów na agarowe pożywki mikrobiologiczne Martina lub pożywkę selektywną ST. Wyniki uzyskane z analiz mikrobiologicznych przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 3

Wizualna ocena wzrostu izolatów *Trichoderma* na podłożu po 14 dniach inkubacji

Izolat <i>Trichoderma</i>	Ocena wzrostu grzybni (%)*	Ocena zarodnikowania (skala 0-5)**
Podłoże + TR43	100	5
Podłoże + TR59	100	5

* Określono procent przerośnięcia podłoża.

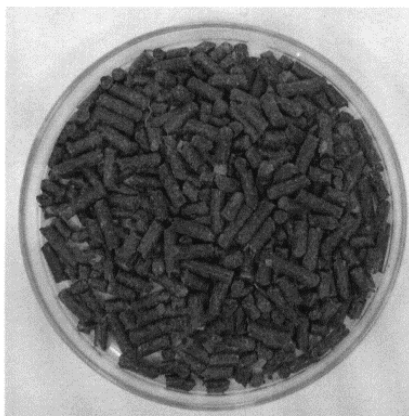
** Określono stopień zarodnikowania *Trichoderma* na powierzchni podłoża.

Tabela 4

Liczebność form propagacyjnych różnych izolatów *Trichoderma* w przerośniętym podłożu, umieszczonym w różnej wielkości workach polipropylenowych

Izolat <i>Trichoderma</i>	Gatunek <i>Trichoderma</i>	Liczebność <i>Trichoderma</i> w podłożu ($\times 10^7$ jtk/g s.m. podłoża) po okresie inkubacji*		
		Wielkość prób podłoża		
		360 ml	5 dm ³	10 dm ³
Podłoże		0	0	0
Podłoże + TR59	<i>T. atroviride</i>	10,0	13,4	0,7
Podłoże + TR40	<i>T. atroviride</i>		8,6	1,5
Podłoże + TR90	<i>T. harzianum</i>		19,3	0,8
Podłoże + TR25	<i>T. atroviride</i>		5,3	0,6
Podłoże + TR43	<i>T. atroviride</i>	14,0	35,1	1,2
Podłoże + TR85	<i>T. harzianum</i>		1,4	0,4

* Okres inkubacji podłoża zainokulowanego izolatami *Trichoderma* 14 dni.



Fot. 2. Podłoże przed inokulacją grzybami *Trichoderma*



Fot. 3. Podłoże przerośnięte grzybem *Trichoderma* (izolat TR59)

Etap 4. Określenie wpływu podłoża przerośniętego grzybami *Trichoderma* na rośliny

Przeprowadzone w warunkach fitotronowych i szklarniowych doświadczenia wykazały korzystny wpływ zarówno samego podłoża, jak i podłoża przerośniętego izolatami *Trichoderma* na rośliny warzywne.

Doświadczenie 1

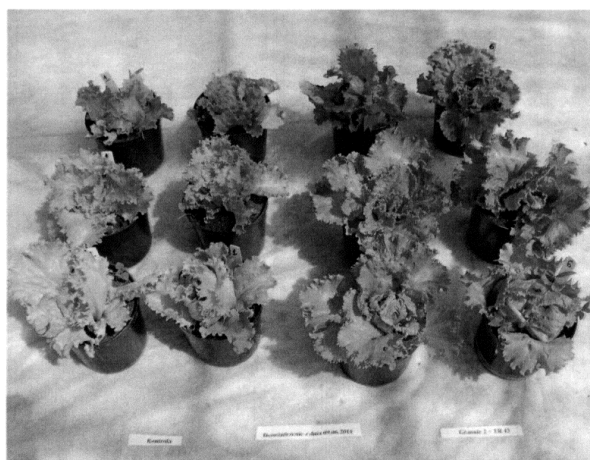
Wpływ podłoża przerośniętego grzybami *Trichoderma* na sałatę odmiany *Elenas* uprawianą w warunkach szklarniowych

Czterotygodniowa rozsada sałaty odmiany *Elenas* została wysadzona do doniczek z glebą rozluźnioną perlitem (3:1). Do gleby dodano 1% czystego podłoża oraz 1% podłoża przerośniętego izolatami *Trichoderma*. W doniczkach kontrolnych pozostawiono samą glebę. Zastosowano izolaty *Trichoderma*: TR25, TRS9, TR106, TR43. Po 6 tygodniach określano masę sałaty. Uzyskane w doświadczeniu wyniki wskazują na korzystny wpływ samego podłoża (kontrola) i podłoża przerośniętego różnymi izolatami *Trichoderma* na wzrost sałaty (tabela 5 i fot. 4).

Tabela 5

Wpływ czystego podłoża oraz podłoża przerośniętego izolatami *Trichoderma* na wzrost sałaty odmiany *Elenas*

Kombinacja	Gatunek <i>Trichoderma</i>	Średnia waga sałaty (g)	% w stosunku do kontroli
Kontrola	-	104,0	100,0
Podłoże	-	142,8	137,3
Podłoże + TR43	<i>T. atroviride</i>	165,4	159,0
Podłoże + TR106	<i>T. virens</i>	144,8	139,2
Podłoże + TR25	<i>T. atroviride</i>	128,2	123,3
Podłoże + TR59	<i>T. atroviride</i>	147,2	141,3



Fot. 4. Wpływ podłoża przerośniętego grzybem *Trichoderma* TR43 na wzrost sałaty

Doświadczenie 2

Wpływ podłoża przerośniętego grzybami *Trichoderma* na pietruszkę odmiany *Halblange* uprawianą w fitotronie.

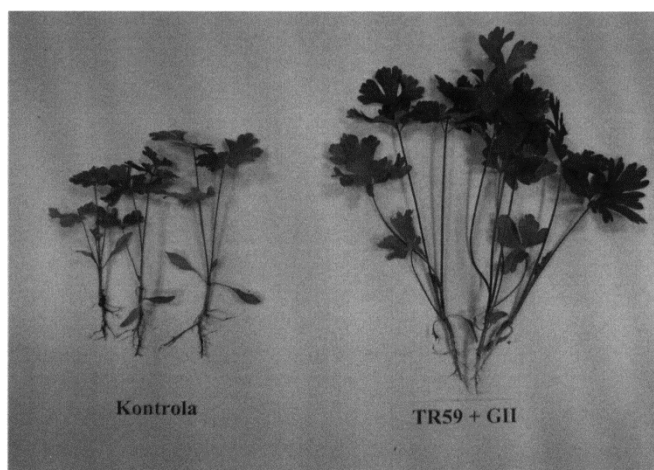
Doświadczenie przeprowadzono w paletach zawierających 3 dm³ gleby z 1% dodatkiem czystego podłoża lub podłoża przerośniętego grzybami *Trichoderma T. virens* TR106 i *T. atroviride* TR59. W doniczkach kontrolnych pozostawiono samą glebę. Nasiona pietruszki odmiany *Halblange* wysiano punktowo w ilości 100 szt. na paletę 7 dni po dodaniu podłoża. Doświadczenie przeprowadzono w komorze fitotronowej w temp. 18°C. Masę części nadziemnej pietruszki określono po 50 dniach. Stwierdzono bardzo korzystny wpływ dodatku czystego podłoża i podłoża przerośniętego *Trichoderma* na wzrost roślin (tabela 6, fot. 5, fot. 6, fot. 7).

Tabela 6

Wpływ czystego podłoża oraz podłoża przerośniętego izolatami *Trichoderma* na wzrost pietruszki odmiany *Halblange*

Kombinacja	Gatunek <i>Trichoderma</i>	Średnia waga siewek pietruszki (g)*	% w stosunku do kontroli
Kontrola	-	4,94	100
Podłoże	-	13,1	265
Podłoże + TR106	<i>T. virens</i>	15,2	308
Podłoże + TR59	<i>T. atroviride</i>	18,7	378

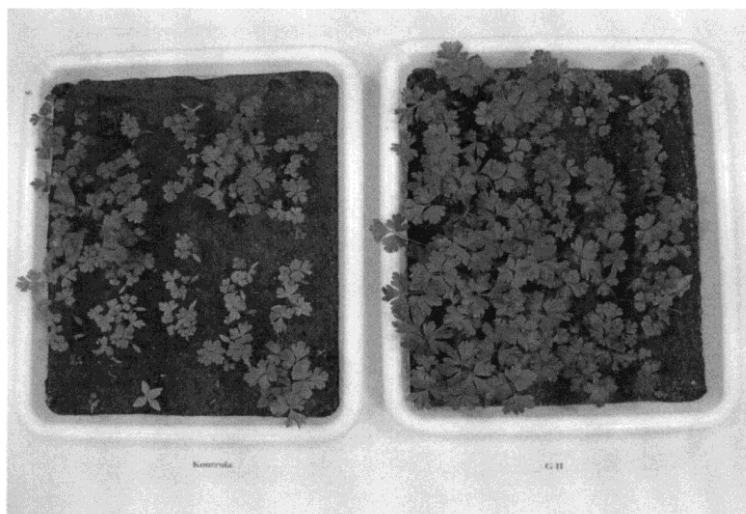
* Określono średnią masę siewek pietruszki z jednej palety.



Fot. 5. Wpływ podłoża przerośniętego grzybem *Trichoderma* TR59 na wzrost pietruszki



Fot. 6. Wpływ podłoża przerośniętego grzybem *Trichoderma* TR59 na wzrost pietruszki



Fot. 7. Wpływ czystego podłoża nieprzerośniętego grzybem *Trichoderma* na wzrost pietruszki

Etap 5. Określenie przeżywalności w glebie grzybów *Trichoderma* namnożonych na podłożu

Przeprowadzono doświadczenie, które dowodzi, że wprowadzone z podłożem grzyby *Trichoderma* przeżywają w glebie przez okres co najmniej kilku miesięcy. Jest to istotne z punktu widzenia ich biologicznej aktywności w stosunku do roślin.

Doświadczenie przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych. Do gleby umieszczonej w doniczkach dodano czyste podłoże oraz podłoże przerośnięte izolatami *Trichoderma* TR25 i TR59. Przeanalizowano liczebność grzybów na pożywce selektywnej ST bezpośrednio po dodaniu do gleby oraz po 1, 2 i 3 miesiącach (tabela 7).

Tabela 7
Przeżywalność w glebie grzybów *Trichoderma* namnożonych na podłożu

Kombinacja	Gatunek	Liczebność <i>Trichoderma</i> w glebie (jtk/g s.m. podłoża)			
		1 dzień	Po 1 miesiącu	Po 2 miesiącach	Po 3 miesiącach
Podłoże	-	0	0	0	0
Podłoże + TR25	<i>T. atroviride</i>	1×10^5	$13,1 \times 10^6$	$4,2 \times 10^6$	$5,8 \times 10^6$
Podłoże + TR59	<i>T. atroviride</i>	1×10^5	$1,3 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$

* jtk – jednostki tworzące kolonie.

Poniżej przedstawiono korzystne efekty wynikające z zastosowania wynalazku.

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* wykazują właściwości korzystne dla roślin uprawnych, w związku z czym wyselekcjonowane izolaty są stosowane w biologicznej ochronie roślin z następujących powodów:

- 1) Grzyby z rodzaju *Trichoderma* wykazują zdolność konkurencji o pokarm z innymi mikroorganizmami. Posiadają zdolność do szybkiego wzrostu w ryzosferze roślin. Zastosowane do inokulacji nasion namnażają się szybko wraz z rozwijającym się korzeniem rośliny zarówno na jego powierzchni, jak i wnikać w zewnętrzną warstwę korteksu (Harman 2000; Metcalf i in. 2004). Niektóre grzyby z rodzaju *Trichoderma* wytwarzają bardzo wydajne siderofory, czyli związki o niskim ciężarze cząsteczkowym mogące chelatować żelazo i w ten sposób hamować wzrost innych grzybów, np. patogenów roślin, które nie posiadają równie wydajnego mechanizmu wychwytywania tego pierwiastka.
- 2) Grzyby z rodzaju *Trichoderma* wykazują małą wrażliwość na różnorodne toksyny, antybiotyki i pestycydy. Cecha ta może mieć duże znaczenie w glebach intensywnie uprawianych i corocznie traktowanych znaczną ilością różnorodnych związków chemicznych. Poza tym grzyby te porastając korzenie roślin wywołują w nich podobną reakcję jaka następuje po inwazji patogena, tzn. wytwarzają fitoaleksyny, związki fenolowe, flawonoidy i wiele innych biologicznie aktywnych związków.
- 3) Grzyby z rodzaju *Trichoderma* posiadają zdolności pasożytnicze w stosunku do wielu innych gatunków grzybów (Chet i in. 1998; Kaur 2005). Zjawisko to jest możliwe dzięki

wydzielaniu przez grzyby z rodzaju *Trichoderma* wielu enzymów litycznych mogących degradować chitynę, glukan czy celulozę, a więc związki wchodzące w skład ścian komórkowych grzybów.

- 4) Grzyby z rodzaju *Trichoderma* wykazują zdolność do wytwarzania związków hamujących wzrost mikroorganizmów takich jak antybiotyki peptydowe (peptaibole), seskwiterpenoidy, poliketidy, izonitryle i inne (Howell 1998).
- 5) Niektóre izolaty *Trichoderma* mogą stymulować wzrost roślin (Bailey i Lumsden 1998; Harman 2000; Harman i in. 2004; Yedidia i in. 2004), np. inokulacja nasion sałaty izolatem *T. harzianum* (izolat PBG) zwiększała masę tych roślin o 49% (Smolińska i Kowalska 2007).
- 6) Grzyby z rodzaju *Trichoderma* wykazują zdolność do indukowania systemicznej odporności w roślinach, np. stwierdzono, że *T. harzianum* T-39 zainokulowany na korzeniach roślin warzywnych czyni je odporne na patogen *B. cinerea*. Szczepy *Trichoderma* indukują systemiczną odporność u różnych roślin, m.in. na *Pseudomonas syringa* i wirusa mozaiki u ogórka, na *R. solani* u bawełny lub na *Colletotrichum graminicola* u kukurydzy. Cechą charakterystyczną indukowanej odporności systemicznej jest to, że występuje ona w całej roślinie, niezależnie od miejsca działania czynnika, który ją wywołał. Po zadziałaniu induktora (elicitora) następuje seria reakcji biochemicznych wywołujących różnorodne mechanizmy ochronne w roślinie (Brunner i in. 2005; De Meyer i in. 1998; Shores 2005).
- 7) Kolejną korzyścią wynikającą ze stosowania szczepów *Trichoderma* w uprawie roślin jest ich pozytywny wpływ na dostępność składników mineralnych w glebie. Altomare i in. (1999) wykazali, że *T. harzianum* Rifai może rozpuszczać nierozpuszczalne związki fosforowe i zwiększać dostępność żelaza wydzielając siderofory, czyli związki chelatujące żelazo.

Produkcja rolna i przetwarzanie uzyskanych produktów wiążą się z powstawaniem różnorodnych odpadów. Wiele odpadów pochodzących z rolnictwa można przeznaczać na cele energetyczne, biorąc jednak pod uwagę zmniejszanie się ilości substancji organicznych w glebach w Polsce, najkorzystniejszym rozwiązaniem jest ich wykorzystanie na polach uprawnych. Znaczna część odpadów z rolnictwa jest biodegradowalna i może być kompostowana. Wskutek rosnącej specjalizacji gospodarstw rolnych problemem są ogromne ilości jednorodnych odpadów powstających w sezonie przetwórczym. Do takich odpadów należy m.in. łuska cebuli. Cebula pod względem powierzchni uprawy zajmuje wśród warzyw gruntowych w naszym kraju trzecią pozycję tuż za kapustą i marchwią. W 2011 roku zbiory cebuli wyniosły ok. 630 tys. ton. Kolejnym odpadem mogącym być szerzej wykorzystanym w rolnictwie jest makuch rzepakowy. Powstaje on w procesie produkcji oleju. Stanowi cenne źródło składników odżywczych dla zwierząt gospodarskich, ale jego wykorzystanie w tym dziale gospodarki jest ograniczone tym, że zawartość makuchu w paszach nie może przekraczać kilku, kilkunastu procent ze względu na zawartość substancji antyżywniowych (m.in. glukozynolany). W 2010 roku przerobiono w Polsce ponad 2,3 mln ton rzepaku i wyprodukowano ponad 130 tys. ton makuchu. Powstała ogromna nadwyżka cennego, bogatego w azot i inne składniki mineralne materiału organicznego. Wytłoczyny z roślin oleistych można stosować, jako środek do poprawiania właściwości gleb w gospodarstwach ekologicznych. Makuch rzepakowy zawiera dużo azotu oraz fosforu, potasu, wapnia, magnezu i siarki (Kalembasa 2010), natomiast zawartość metali ciężkich jest poniżej dopuszczalnych norm i mniejsza niż np. w oborniku. Dzięki dużej zawartości azotu makuch może być szybko mineralizowany w glebie, uwalniając składniki pokarmowe dla roślin. Polska jest też dużym producentem jabłek. W 2011 roku zebrano ok. 2,5 mln ton jabłek, a w 2012 roku było to 3 mln ton. Polska jest największym producentem zagęszczonego soku jabłkowego. W 2011 roku eksport z Polski do krajów unijnych wyniósł ok. 145 tys. ton. Przy tak intensywnej produkcji powstaje znaczna ilość wytłoczyn z jabłek. Polska jest na drugim miejscu w Europie pod względem poziomu produkcji truskawek. Przy produkcji owoców sięgającej 160 tys. ton ilość odpadów także jest znacząca. Wymienione powyżej odpady stanowią doskonałe komponenty do produkcji podłoża wg wynalazku.

Zaletą podłoża według wynalazku jest zastosowanie mieszanki substancji organicznych, która jest nośnikiem pożytecznych dla roślin grzybów *Trichoderma* oraz źródłem substancji odżywczych dla roślin. Przygotowanie podłoża w postaci wysuszonego granulatu umożliwia długotrwałe jego przechowywanie i wykorzystanie w odpowiednim z punktu widzenia metod agrotechnicznych terminie. Jedną z metod poprawiania jakości gleb jest ich wzbogacenie w materię organiczną. Właściwości fizyczne,

biologiczne i chemiczne gleby kształtowane są przez substancję organiczną, która dostaje się do gleby. Dodatek substancji organicznej do gleby sprzyja podnoszeniu jej jakości. Jest to szczególnie ważne, ponieważ jakość użytków rolnych w Polsce jest niższa niż średnia w Europie. Rolniczą przydatność zmniejsza duży (ok. 60%) udział gleb słabych i zakwaszonych. Jest ich średnio dwukrotnie więcej niż w Europie.

Wprowadzanie do gleby grzybów z rodzaju *Trichoderma* na nośnikach organicznych będzie miało, oprócz korzyści bezpośrednich dla roślin, długofalowy pozytywny wpływ na glebę.

Zastrzeżenia patentowe

1. Podłoże do uprawy roślin, zawierające substancje organiczne, **znamiennie tym**, że zawiera wysuszone łuski cebuli, wysuszone wyłoczyny z jabłka, wysuszone wyłoczyny z truskawki oraz wysuszone wyłoczyny z rzepaku zmieszane ze sobą w stosunku 1:1:1:1.
2. Podłoże według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że łuski cebuli są rozdrobnione na cząstki o długości od 0,2 do 0,5 cm.
3. Podłoże według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że wysuszone łuski cebuli, wysuszone wyłoczyny z jabłka, wysuszone wyłoczyny z truskawki oraz wysuszone wyłoczyny z rzepaku zostały zmieszane ze sobą z dodatkiem wody w stosunku 1 dm³ wody na 40 dm³ mieszanki oraz poddane granulacji.
4. Sposób przygotowania podłoża do uprawy roślin, polegający na mieszanii składników organicznych, **znamiennie tym**, że wysuszone łuski cebuli, wysuszone wyłoczyny z jabłka, wysuszone wyłoczyny z truskawki oraz wysuszone wyłoczyny z rzepaku mieszają się ze sobą, korzystnie w stosunku 1:1:1:1, następnie dodaje się wodę, korzystnie w ilości 1 dm³ wody na 40 dm³ mieszanki, mieszają się wszystkie składniki do uzyskania masy o jednolitej konsystencji, następnie w czasie korzystnie do 3 godzin po wymieszaniu uzyskaną masę poddaje się granulacji, po czym uzyskany granulat suszy się w temperaturze 20–25°C przez okres do 10 dni.
5. Zastosowanie podłoża określonego w zastrzeżeniach od 1 do 3, do namnażania grzyba z rodzaju *Trichoderma*.
6. Zastosowanie według zastrz. 5, **znamiennie tym**, że namnażanie grzyba z rodzaju *Trichoderma* przeprowadza się na podłożu umieszczonym w perforowanych workach, korzystnie polipropylenowych.
7. Zastosowanie według zastrz. 6, **znamiennie tym**, że podłoże w workach zwilża się wodą.
8. Zastosowanie według zastrz. 7, **znamiennie tym**, że do zwilżonego podłoża dodaje się uzyskaną w dowolny sposób wodną zawiesinę zarodników grzyba *Trichoderma*.
9. Zastosowanie według zastrz. 8, **znamiennie tym**, że podłoże zawierające zawiesinę zarodników grzyba *Trichoderma* inkubuje się w temperaturze 18–26°C przez okres 12–16 dni.

