

Wpłynęło 04.11.2016 r.  
Zrecenzowano 20.12.2016 r.  
Zaakceptowano 27.01.2017 r.

A – koncepcja  
B – zestawienie danych  
C – analizy statystyczne  
D – interpretacja wyników  
E – przygotowanie maszynopisu  
F – przegląd literatury

# WPŁYW IZOLATU *Trichoderma harzianum* ORAZ SŁOMY PSZENNEJ NA LICZEBNOŚĆ GRZYBÓW PLEŚNIOWYCH I BAKTERII W GLEBIE

**Donata KOSICKA-DZIECHCIAREK<sup>1)</sup> ABCD, Natalia TATUŚKO<sup>2)</sup> AEF**

<sup>1)</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej

<sup>2)</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Katedra Gleboznawstwa i Ochrony Gruntów

## Streszczenie

Określono wpływ izolatu *Trichoderma harzianum* na liczebność mikroorganizmów autochtonicznych, występujących w glebie wzbogaconej słomą z pszenicy odmiany ‘Ostka Smolicka’ oraz ‘Tybalt’. Do doświadczenia przeprowadzonego w warunkach laboratoryjnych, wykorzystano próbki gleby zakwalifikowanej jako płowa właściwa, należącej do klasy bonitacyjnej IVb i kompleksu żytniego dobrego. Określenie liczebności grzybów pleśniowych w tym *Trichoderma* sp. przeprowadzono metodą płytkową Kocha z zastosowaniem wybiórczych podłoży. Badania wykazały, że działanie zastosowanego izolatu *Trichoderma harzianum* na drobnoustroje występujące w poszczególnych wariantach było zróżnicowane. Wykonane testy na antagonizm wg Mańki udowodniły, że zastosowany izolat przejawiał zdolności antagonistyczne w stosunku do wyizolowanych grzybów pleśniowych (*Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp.). Z doświadczeń przeprowadzonych w kokulturach na podłożu PDA wynika, że zastosowany grzyb strzępkowy *Trichoderma harzianum* w największym stopniu ograniczył rozwój *Rhizopus* sp. Wprowadzenie wybranego izolatu wpłynęło na zmniejszenie liczebności grzybów pleśniowych oraz wzrost liczebności bakterii. Dodatek słomy pszennej do gleby nie miał wpływu na wzrost testowanego szczepu *Trichoderma*.

**Słowa kluczowe:** grzyby pleśniowe, słoma pszenna, *Trichoderma harzianum*

---

**Do cytowania For citation:** Kosicka-Dziechciarek D., Tatuśko N. 2017. Wpływ izolatu *Trichoderma harzianum* oraz słomy pszennej na liczebność grzybów pleśniowych i bakterii w glebie. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 17. Z. 2 (58) s. 111–125.

## WSTĘP

Gleba jest naturalnym siedliskiem występowania różnych gatunków mikroorganizmów. W zależności od żyzności gleby, mogą w niej występować nawet miliardy bakterii [ŁOWIŃSKI, DACH 2006; SZEMBER 2001]. Jednym z podstawowych czynników determinujących liczebność i aktywność drobnoustrojów jest dostępność materii organicznej. Poszczególne grupy drobnoustrojów przyczyniają się do wielu przemian, których tempo jest zależne od warunków klimatycznych, stopnia zanieczyszczenia środowiska glebowego oraz struktury gleby [VAN VEEN i in. 1981]. Słoma wprowadzana do gleby jest prekursorem materii organicznej, wywiera wpływ na właściwości fizykochemiczne gleby, a także stanowi źródło energii dla mikroorganizmów [MALICKI, MICHAŁOWSKI 1994]. Drobnoustroje glebowe pełnią główną rolę w mineralizacji materii organicznej, udostępnianiu roślinom składników pokarmowych, powstawaniu humusu glebowego oraz ograniczeniu patogenów [CZAJKA, DAMSZEL 2005; TYSZKIEWICZ 2010].

W celu zmniejszenia liczebności grzybów pleśniowych, które mogą przyczyniać się do chorób roślin, duże zainteresowanie budzą grzyby strzępkowe z rodzaju *Trichoderma*, które charakteryzują się zdolnością do szybkiego wzrostu i przeżycia w niekorzystnych warunkach środowiska, a także wykorzystują substraty jako składniki pokarmowe i modyfikują ryzosferę. HARMAN [2000] podaje, że grzyby z rodzaju *Trichoderma* są szeroko rozpowszechnione na całym świecie, w prawie wszystkich typach gleb. KREDICS i in. [2003] wykazali, że występowanie *Trichoderma* sp. w glebie jest uzależnione od czynników fizykochemicznych, do których należy zaliczyć: wilgotność, temperaturę, odczyn gleby, zawartość CO<sub>2</sub>, a także inne mikroorganizmy bytujące w glebie. Wyżej wymienieni autorzy stwierdzili, że przeżycie gatunku *Trichoderma harzianum* w niekorzystnych warunkach środowiska jest możliwe przez wytworzenie chlamydospor o grubych ścianach komórkowych. Zdaniem BENITEZ i in. [2004], *Trichoderma harzianum* należy do psychrofilnych szczepów i może rozwijać się nawet w niskiej temperaturze (5–10°C). Ponadto według wyżej wymienionego autora szczepy *Trichoderma* sp. produkują liczne enzymy, do których należy zaliczyć: proteazy, celulazy, lipazy, fosfatazy, amylazy oraz ksylanazy, przyczyniające się do rozkładu materii organicznej. Zdolność *Trichoderma* sp. do produkcji tych enzymów uzasadnia wykorzystanie omawianych grzybów strzępkowych do produkcji szczepionek mikrobiologicznych.

Celem przeprowadzonego doświadczenia było określenie wpływu izolatu *Trichoderma harzianum* na liczebność autochtonicznych grzybów pleśniowych oraz bakterii glebowych. W badaniach oceniono również tempo rozwoju izolatu *Trichoderma harzianum* podczas inkubacji gleby lekkiej ze słomą dwóch odmian pszenicy ‘Ostka Smolicka’ – z rdzeniem pustym oraz ‘Tybalt’ – z rdzeniem wypełnionym.

## MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Doświadczenie przeprowadzono w latach 2014–2015 w warunkach laboratoryjnych w Katedrze Gleboznawstwa i Ochrony Gruntów Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, z wykorzystaniem 120 pojemników o pojemności 400 cm<sup>3</sup>. Natomiast analizy mikrobiologiczne przeprowadzono w laboratorium Katedry Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Do doświadczenia wykorzystano glebę pobraną z wierzchniej warstwy gruntów ornych o uziarnieniu piasku gliniastego, w kategorii agronomicznej lekkiej. Glebę zakwalifikowano jako płową właściwą [PTG 2011], należącą do klasy bonitacyjnej IVb i kompleksu żyniego dobrego o zawartości C<sub>org</sub> = 4,92 g·kg<sup>-1</sup> gleby i pH = 5,87. Materiał do badań został wysuszony powietrznie i przesiany przez sito o średnicy oczek 2 mm. Ponadto wykorzystano słomę z pszenicy odmian ‘Ostka Smolicka’ oraz ‘Tybalt’. Odmiana ‘Ostka Smolicka’ charakteryzowała się pustym źdźbłem, natomiast cechą charakterystyczną słomy z pszenicy odmiany ‘Tybalt’ jest wypełnione rdzeniem źdźbło. Glebę inkubowano przez 445 dni w warunkach laboratoryjnych, w stałej temperaturze ok. 25°C. W początkowej fazie doświadczenia (1–8 termin) próbki gleby przeznaczone do analiz mikrobiologicznych pobierano w odstępach 13 dni, natomiast w późniejszych terminach analiz (9–20), co 30 dni. W 17. dniu doświadczenia, ze względu na powolny rozkład słomy, do inkubowanego materiału dodano izolat *Trichoderma harzianum* (T1), o zagęszczeniu zarodników 10<sup>6</sup> w ilości 50 cm<sup>3</sup>·(400 cm<sup>3</sup>)<sup>-1</sup>. Warianty doświadczenia przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Warianty doświadczenia

**Table 1.** Variants of experiment

Numer wariantu Number of variant	Warianty Variants
I	400 g gleby + 0,03 g N 400 g soil + 0.03 g N
II	400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany ‘Tybalt’ + 0,03 g N 400 g soil + 800 g wheat straw ‘Tybalt’ + 0.03 g N
III	400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany ‘Ostka Smolicka’ + 0,03 g N 400 g soil + 800 g wheat straw ‘Ostka Smolicka’ + 0.03 g N
IV	400 g gleby + 0,03 g N + <i>Trichoderma harzianum</i> 400 g soil + 0.03 g N + <i>Trichoderma harzianum</i>
V	400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany ‘Tybalt’ + 0,03 g N + <i>Trichoderma harzianum</i> 400 g soil + 800 g wheat straw ‘Tybalt’ + 0.03 g N + <i>Trichoderma harzianum</i>
VI	400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany ‘Ostka Smolicka’ + 0,03 g N + <i>Trichoderma harzianum</i> 400 g soil + 800 g wheat straw ‘Ostka Smolicka’ + 0.03 g N + <i>Trichoderma harzianum</i>

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Azot do analizowanej gleby wprowadzono w postaci mocznika. Całość doprowadzono do 60% PPW (połowej pojemności wodnej). Ze względu na spadek wilgotności w 169. dniu doświadczenia analizowany materiał został ponownie doprowadzony do 60% PPW. Wykorzystany w doświadczeniu izolat *Trichoderma harzianum* pochodził z kolekcji Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach.

Na mikrobiologicznych podłożach wybiórczych metodą płytkową Kocha oznaczono liczebność jednostek tworzących kolonie (jtk) bakterii, ogólną liczebność grzybów oraz liczebność *Trichoderma harzianum*. Do określenia liczebności bakterii wykorzystano agar standard firmy Merck, natomiast ogólną liczebność grzybów pleśniowych określono na podłożu wg Martina [MARTIN 1950]. Liczebność *Trichoderma harzianum* określono za pomocą zmodyfikowanego podłoża według Martina z dodatkiem dwóch antybiotyków (streptomycyna, chloramfenikol) oraz dwóch fungicydów (pentachloronitrobenzen, metalaxyl). Grzyby pleśniowe oraz grzyby z rodzaju *Trichoderma* inkubowano przez 7 dni w temperaturze 25°C, bakterie inkubowano również przez 7 dni w temperaturze 35°C. W celu określenia ogólnej liczebności drobnoustrojów w badanym materiale zastosowano płytkową metodę posiewu rozcieńczeń w pięciu powtórzeniach dla każdego wariantu. W celu identyfikacji systematycznej wyizolowanych grzybów wykorzystano analizy mikroskopowe oraz klucze mikrobiologiczne [WATANABE 2010]. Wyizolowane grzyby przeszczepiono na podłoże PDA i po 7 dniach inkubacji wycięto sterylnym korkoborem słupki o średnicy 10 mm, które przeniesiono na podłoże PDA w taki sposób, aby odległość między nimi wynosiła 20 mm. Otrzymane kokultury (*Trichoderma harzianum* + *Penicillium* sp.; *Trichoderma harzianum* + *Rhizopus* sp.; *Trichoderma harzianum* + *Fusarium* sp.; *Trichoderma harzianum* + *Mucor* sp.) inkubowano 7 dni w temperaturze 25°C, a następnie oceniono efekt oddziaływań według Mańki [MAŃKA 1974]. Wszystkie testy wykonano w trzech powtórzeniach. Ponadto, w celu zobrazowania zachodzących interakcji między zastosowanym izolatem *Trichoderma harzianum*, a wyizolowanymi grzybami pleśniowymi, wykonano dokumentację fotograficzną. Hodowle jednoorganizmowe stanowiły wówczas kontrolę.

Do pomiaru pH wykorzystano zlewki o pojemności 100 cm<sup>3</sup>, do których odważono 10 g gleby powietrznie suchej. Następnie dodano 25 cm<sup>3</sup> 1 M roztworu KCl, mieszano bagietką i odstawiono w temperaturze ok. 25°C na jedną dobę. Po zakończonej inkubacji odczyn roztworu glebowego oznaczono potencjometrycznie za pomocą pehametru.

Analizy istotności statystycznej wyników dokonano, wykorzystując dwuczynnikową analizę wariancji (ANOVA) na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  w programie Statistica 12.0. W celu określenia istotnych różnic liczebności mikroorganizmów w analizowanych obiektach doświadczalnych i terminach badań, obliczono NIR (najmniejsza istotna różnica) metodą Tukeya na poziomie istotności  $\alpha = 0,01$  i  $0,05$  dla czynników doświadczalnych oraz ich interakcji, gdzie czynnikiem A był termin pobrania próbek gleby do analizy ( $n = 20$ ), a B – wariant doświadczenia ( $n = 6$ ).

## WYNIKI I DYSKUSJA

Grzyby pleśniowe odgrywają bardzo ważną rolę w krążeniu substancji pokarmowych w glebie, jako organizmy saprofityczne przeprowadzają bardzo intensywne procesy mineralizacji materii organicznej w podłożu [BIS 2002]. Omawiane drobnoustroje są potrzebne do resyntezy humusu, a także tworzenia nowej biomasy mikroorganizmów [BŁASZCZYK, FIT 2004]. Rozwój drobnoustrojów w glebie uwarunkowany jest wieloma czynnikami, do których należy zaliczyć w głównej mierze wilgotność gleby, dostęp powietrza, obecność składników pokarmowych, temperaturę oraz odczyn i strukturę gleby [GALUS-BARCHAN, PAŚMIONKA 2014].

Omawiając dynamikę zmian liczebności grzybów pleśniowych w inkubowanym materiale stwierdzono, że wprowadzenie izolatu *Trichoderma harzianum* w 16. dniu doświadczenia do gleby z dodatkiem słomy pszennej mogło być jedną z przyczyn wpływających na zmniejszenie liczebności omawianych mikroorganizmów w wariacie IV (400 g gleby + 0,03 g N + *T. harzianum*), V (400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany 'Tybalt' + 0,03 g N + *T. harzianum*) oraz VI (400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany 'Ostka Smolicka' + 0,03 g N + *T. harzianum*) (tab. 2). Kolejnym czynnikiem mającym wpływ na zmianę liczebności grzybów pleśniowych we wszystkich wariantach był prawdopodobnie postępujący rozkład materii organicznej. Rozpatrując zmianę liczebności grzybów pleśniowych w omawianym doświadczeniu stwierdzono, że istotny wzrost liczebności grzybów pleśniowych nastąpił między 22. a 64. dniem doświadczenia we wszystkich wariantach, natomiast zmniejszenie liczebności grzybów pleśniowych w wyżej wymienionych wariantach zaobserwowano między 78. a 169. dniem doświadczenia. Największą liczebnością omawianych mikroorganizmów charakteryzował się wariant III (400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany 'Ostka Smolicka' + 0,03 g N) w 36. dniu doświadczenia i wariant V (400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany 'Tybalt' + 0,03 g N + *T. harzianum*) w 195. dniu doświadczenia. Wzrost liczebności omawianych drobnoustrojów zaobserwowano w okresie od 195. dnia do 222. dnia prowadzonego doświadczenia, co prawdopodobnie było spowodowane ponownym doprowadzeniem analizowanego materiału do 60% PPW. Zdaniem SZEMBERA [2001], woda odgrywa istotną rolę w życiu mikroorganizmów. Wyżej wymieniony autor stwierdził, że zmniejszenie ilości wody w środowisku ogranicza rozwój i aktywność życiową drobnoustrojów, co jest uzasadnieniem spadku liczebności grzybów pleśniowych w badaniach własnych. Z kolei WONG i FANG [2000] wykazali, że kolejnym czynnikiem, który mógł wywrzeć wpływ na liczebność mikroorganizmów, była wartość pH badanego materiału.

Badania własne potwierdzają tezę, jaką postawił wyżej wymieniony autor, a zatem wzrost wartości pH inkubowanego materiału gleby między 141. a 169. dniem doświadczenia (tab. 3) mógł przyczynić się do hamowania wzrostu grzybów pleśniowych w omawianych terminach analiz. Niekorzystne wartości pH środowiska skutkują zmniejszeniem tempa rozwoju mikroorganizmów lub nawet całkowi-

**Tabela 2.** Dynamika zmian liczebności grzybów pleśniowych**Table 2.** Dynamics of variability in the count of moulds

Termin Term	Kolejny dzień Next day	Wariant doświadczenia			Variant of experiment		
		I	II	III	IV	V	VI
		liczebność, $10^3$ jtk·g <sup>-1</sup> s.m. gleby			number, $10^3$ cfu·g <sup>-1</sup> DM of soil		
1	6.	18,23	52,11	18,25	22,01	32,36	25,99
2	16.	54,15	77,19	125,04	77,72	64,51	88,06
		bez dodatku <i>Trichoderma harzianum</i> without the addition of <i>Trichoderma harzianum</i>			z dodatkiem <i>Trichoderma harzianum</i> with the addition of <i>Trichoderma harzianum</i>		
3	22.	98,64	329,01	306,06	133,09	217,87	337,12
4	36.	169,12	470,02	579,22	242,29	517,88	400,92
5	50.	167,75	144,84	150,73	165,97	172,26	172,26
6	64.	231,55	216,39	20,13	162,55	43,65	5,51
7	78.	25,98	11,42	7,13	48,65	8,77	12,95
8	91.	69,95	118,53	67,25	10,65	35,81	35,90
9	112.	91,01	62,41	54,21	12,15	62,51	17,03
10	141.	20,46	1,39	5,48	4,04	5,46	7,25
11	169.	7,05	77,77	113,38	0,10	1,83	55,48
12	195.	81,91	9,32	31,94	190,03	126,08	110,32
13	222.	112,02	104,05	135,65	124,52	171,70	201,52
14	250.	61,01	103,78	1,05	64,33	58,16	2,15
15	285.	1,07	2,14	15,69	1,30	0,91	1,78
16	313.	1,96	3,17	5,98	1,06	2,83	1,76
17	335.	3,21	3,93	3,11	0,72	4,93	1,05
18	368.	1,41	1,04	2,12	0,66	3,17	4,44
19	403.	1,05	3,41	2,06	0,83	4,19	19,21
20	445.	3,46	0,95	1,34	1,03	1,04	19,70

NIR<sub>0,01</sub> A·B = 50,88. NIR<sub>0,05</sub> A·B = 38,60. LSD<sub>0,01</sub> A·B = 50,88. LSD<sub>0,05</sub> A·B = 38,60.

Objaśnienia: warianty, jak w tabeli 1; NIR – najmniejsza istotna różnica.

Explanations: variants as in Table 1; LSD – least significant difference.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

tym zahamowaniem ich rozwoju. Wartość pH jest ściśle określona dla rodzajów, grup, a nawet szczepów drobnoustrojów. Rozwojowi grzybów sprzyja środowisko kwaśne, natomiast do rozwoju bakterii najbardziej odpowiednie jest środowisko o odczynie obojętnym lub lekko zasadowym [SZEMBER 2001]. Na podstawie przeprowadzonych badań własnych (tab. 3) wykazano, że wzrost wartości pH maks. do 7,02 od 285. do 445. dnia doświadczenia we wszystkich wariantach mógł przyczynić się do zmniejszenia liczebności grzybów pleśniowych. Wzrostowi liczebności omawianych grzybów w badaniach własnych sprzyjało środowisko kwaśne, gdzie zakres wartości pH wynosił 4,57–5,91 (6.–64. dzień dla wariantu I, II i III oraz 195.–222. dzień dla wszystkich wariantów).

**Tabela 3.** Zmiany pH w inkubowanym materiale**Table 3.** pH variation in incubated material

Termin Term	Kolejny dzień Next day	Wariant doświadczenia			Variant of experiment		
		I	II	III	IV	V	VI
1	6.	4,95	5,12	4,83	4,88	4,77	4,86
2	16.	4,66	4,65	4,59	4,70	4,63	4,60
		bez dodatku <i>Trichoderma harzianum</i> without the addition of <i>Trichoderma harzianum</i>			z dodatkiem <i>Trichoderma harzianum</i> with the addition of <i>Trichoderma harzianum</i>		
3	22.	4,59	4,67	4,60	4,58	4,67	4,65
4	36.	4,57	4,61	4,79	4,59	4,66	4,92
5	50.	4,85	4,69	4,64	4,73	4,64	4,69
6	64.	4,77	4,76	5,91	4,76	4,96	5,68
7	78.	5,63	5,37	5,05	5,72	5,39	5,52
8	91.	4,92	4,87	4,87	4,91	4,78	4,89
9	112.	4,85	4,77	4,89	4,92	4,85	4,94
10	141.	6,72	6,13	6,17	7,45	5,55	6,24
11	169.	6,35	5,37	5,12	6,18	6,37	5,27
12	195.	5,21	5,19	5,28	5,07	5,09	5,10
13	222.	5,15	5,07	5,06	5,02	5,09	5,06
14	250.	5,04	5,01	6,27	5,05	5,10	6,76
15	285.	6,49	6,40	6,67	6,44	6,47	6,66
16	313.	6,48	6,60	6,39	6,58	6,53	6,39
17	335.	6,40	6,39	6,49	6,34	6,34	6,36
18	368.	6,38	6,41	6,37	6,40	6,41	6,40
19	403.	6,39	6,35	6,32	6,31	6,45	6,18
20	445.	7,02	6,17	6,22	6,19	6,27	6,72

Objaśnienia, jak w tabeli 2. Explanations, as in the Table 2.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

Na liczebność grzybów pleśniowych istotny wpływ miał również termin analiz, gdzie wraz z czasem trwania doświadczenia stopień mineralizacji słomy ulegał zwiększeniu. Zauważalny spadek liczebności grzybów pleśniowych zaobserwowano w przypadku wariantu IV (400 g gleby + 0,03 g N + *T. harzianum*), V (400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany 'Tybałt' + 0,03g N + *T. harzianum*) i VI (400 g gleby + 800 g słomy z pszenicy odmiany 'Ostka Smolicka' + 0,03 g N + *T. harzianum*) od 285. do 445. dnia doświadczenia. Można domniemywać, że słabsze namnażanie się grzybów pleśniowych w glebie w powyższych wariantach i terminach mogło być spowodowane zastosowaniem izolatu *Trichoderma harzianum*, który wykazuje oddziaływanie o charakterze antagonistycznym w stosunku do różnych gatunków grzybów pleśniowych. Antagonistyczne oddziaływanie grzybów z rodzaju *Trichoderma*, zdaniem WOJTKOWIAK-GĘBAROWSKIEJ [2006], BARBOSA

i in. [2001] oraz BUSKO i in. [2008], jest związane z produkcją licznych antybiotyków lotnych i nielotnych, a także z produkcją enzymów degradujących ściany komórkowe, do których należą: chitynazy, glukanazy, celulazy oraz proteinazy. Enzymy wydzielane przez grzyby strzępkowe z rodzaju *Trichoderma* przyczyniają się do degradacji grzybni grzybów pleśniowych, która następnie może być wykorzystana jako dodatkowe źródło pokarmu dla *Trichoderma* sp. [BUSKO i in. 2008; ZIELIŃSKA i in. 2007].

Próbki gleby analizowano również pod kątem obecności grzybów strzępkowych z rodzaju *Trichoderma* sp., ze względu na ich powszechne występowanie w środowisku glebowym. Przeprowadzone analizy mikrobiologiczne wykazały brak obecności tych grzybów w glebie przed wprowadzeniem izolatu *Trichoderma*

**Tabela 4.** Dynamika zmian liczebności *Trichoderma harzianum* (T1)

**Table 4.** Dynamics of variability in the count of *Trichoderma harzianum* (T1)

Termin Term	Kolejny dzień Next day	Wariant doświadczenia			Variant of experiment		
		I	II	III	IV	V	VI
		liczebność, $10^3$ jtk·g <sup>-1</sup> s.m. gleby			number, $10^3$ cfu·g <sup>-1</sup> DM of soil		
1	6.	0	0	0	0	0	0
2	16.	0	0	0	0	0	0
		bez dodatku <i>Trichoderma harzianum</i> without the addition of <i>Trichoderma harzianum</i>			z dodatkiem <i>Trichoderma harzianum</i> with the addition of <i>Trichoderma harzianum</i>		
3	22.	0	0	0	1,66	4,33	2,39
4	36.	0	0	0	7,33	1,01	1,33
5	50.	0	0	0	4,66	2,33	3,66
6	64.	0	0	0	1,10	2,33	4,33
7	78.	0	0	0	11,36	1,66	4,32
8	91.	0	0	0	1,66	2,03	2,67
9	112.	0	0	0	3,66	1,33	1,33
10	141.	0	0	0	2,33	3,29	2,34
11	169.	0	0	0	9,03	1,66	1,02
12	195.	0	0	0	1,06	1,09	1,02
13	222.	0	0	0	1,66	2,33	1,12
14	250.	0	0	0	0,29	0,1	1,33
15	285.	0	0	0	0,36	0,45	2,66
16	313.	0	0	0	6,33	0,39	1,04
17	335.	0	0	0	11,03	0,98	0,69
18	368.	0	0	0	3,33	0,39	1,03
19	403.	0	0	0	4,33	5,33	2,33
20	445.	0	0	0	16,02	1,33	1,28

NIR<sub>0,01</sub> A·B = 4,81. NIR<sub>0,05</sub> A·B = 3,64. LSD<sub>0,01</sub> A·B = 4,81. LSD<sub>0,05</sub> A·B = 3,64.

Objaśnienia, jak w tabeli 2. Explanations, as in the Table 2.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.



*harzianum*. Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że wykorzystany izolat *Trichoderma harzianum* najlepiej rozwijał się na wariacie IV (400 g gleby + 0,03 g N + *T. harzianum*), co mogło być spowodowane brakiem konkurencji ze strony mikroorganizmów wprowadzonych do gleby wraz ze słomą pszenną (wariant V i VI). Na rozwój grzybów strzępkowych z rodzaju *Trichoderma* (tab. 4) istotny wpływ miała również wartość pH gleby. Od 285. do 445. dnia trwania doświadczenia we wszystkich wariantach wraz ze wzrostem wartości pH wzrastała również liczebność *Trichoderma harzianum*. Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że *Trichoderma harzianum* najlepiej rozwija się, gdy pH = 5,72–6,72. Potwierdzeniem badań własnych są dostępne dane literaturowe, z których wynika, że grzyby *Trichoderma* sp. rozwijają się na podłożach o szerokim zakresie odczynu kwaśnego pH 2,0–6,5. Optymalne pH do ich wzrostu wynosi 5,0–5,5, natomiast w warunkach dużej koncentracji CO<sub>2</sub> wykazują również możliwości rozwoju na podłożach alkalicznych [BENITEZ i in. 2004; PAPAIVIZAS 1985].

Podczas inkubacji gleby ze słomą pszenną oraz izolatem *Trichoderma harzianum* z inkubowanego materiału (warianty IV, V i VI) wyizolowano cztery rodzaje najczęściej występujących grzybów pleśniowych, które przeszczepiono na podłoże PDA (agar glukozowo-ziemniaczany firmy Sigma-Aldrich) z dodatkiem dwóch antybiotyków: streptomycyny i rimfapicyny. Dane dotyczące wzrostu autochtonicznych grzybów pleśniowych wyizolowanych z inkubowanego materiału w obecności izolatu *Trichoderma harzianum* po 7 dniach inkubacji w temperaturze 25°C przedstawiono w tabeli 5. Za pomocą badań mikroskopowych określono przynależność systematyczną wyizolowanych grzybów pleśniowych na podstawie kluczy mikrobiologicznych [WATANABE 2010]. Wśród wyizolowanych szczepów dominowały rodzaje *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. oraz *Penicillium* sp.

Na podstawie przeprowadzonych testów na antagonizm (tab. 6) stwierdzono, że izolat *T. harzianum* wykazał zdolności konkurencyjne w stosunku do wyizolowanych grzybów z poszczególnych wariantów. Wpływ izolatu *Trichoderma harzianum* na wyżej wymienione grzyby badano w hodowlach dwuorganizmowych na podłożu PDA, posługując się skalą Mańki. Zastosowany izolat *Trichoderma* sp.

**Tabela 5.** Autochtoniczne grzyby pleśniowe wyizolowane z inkubowanego materiału podczas trwania doświadczenia

**Table 5.** Autochthonous moulds isolated from incubated material during the experiment

Rodzaj Type	Częstotliwość występowania, % The incidence rate in%
<i>Fusarium</i> sp.	3
<i>Rhizopus</i> sp.	15
<i>Mucor</i> sp.	7
<i>Penicillium</i> sp.	75

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

**Tabela 6.** Wynik testu biotycznego według Mańki w hodowlach dwuorganizmowych prowadzonych na podłożu glukozowo-ziemniaczanym po 7 dniach inkubacji w 25°C

**Table 6.** The result of the Mańka biotic test in dual organism cultures grown on a glucose and potato substrate after 7 days of incubation at 25°C

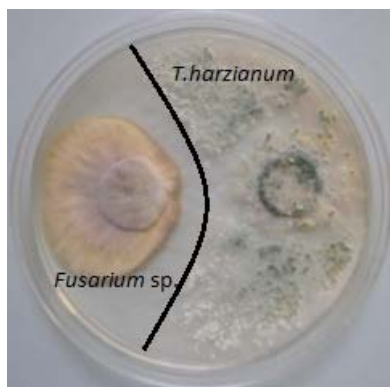
Szczep Strains	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Mucor</i> sp.
<i>T. harzianum</i>	+4	+6	+4	+4

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

miał zdolność do wytwarzania zielonego pigmentu na powierzchni grzybni, co uławiło stwierdzenie interakcji między antagonistą a izolowaną mikroflorą.

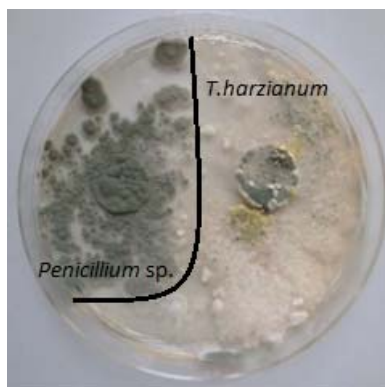
Izolat *Trichoderma harzianum* w znacznym stopniu ograniczył rozwój *Rhizopus* sp. – uzyskał +6 punktów w skali Mańki. Słabsze efekty biotyczne wybranego izolatu otrzymano w stosunku do *Fusarium* sp. (fot. 1), *Penicillium* sp. (fot. 2) oraz *Mucor* sp.

Izolat *Trichoderma harzianum* we wszystkich kokulturach przyczyniał się do ograniczenia wzrostu wyizolowanych grzybów pleśniowych, uzyskując od +6 do +4 punktów w skali Mańki. Ograniczenie rozwoju *Fusarium* sp. według ALTOMORE i in. [1999] oraz BENITEZ i in. [2004] mogło być spowodowane produkcją przez *Trichoderma* sp. sideroforów, które chelatują żelazo. CHEŁKOWSKI [1985] wykazał, że silne metabolity, do których należy zaliczyć antybiotyki i mykotoksyny wydzielane przez *Penicillium* sp. oddziałują toksycznie na *Trichoderma* sp. Badania własne wykazały jednak odmienną zależność, a mianowicie *Trichoderma harzianum* przejawiała właściwości antagonistyczne w stosunku do *Penicillium* sp. (fot. 2).



Fot. 1. Efekt oddziaływania między *T. harzianum* a *Fusarium* sp. (fot. Kosicka-Dziechciarek)

Photo 1. The effect of the interaction between *T. harzianum* and *Fusarium* sp. (phot. Kosicka-Dziechciarek)



Fot. 2. Efekt oddziaływania między *T. harzianum* a *Penicillium* sp. (fot. Kosicka-Dziechciarek)

Photo 2. The effect of the interaction between *T. harzianum* and *Penicillium* sp. (phot. Kosicka-Dziechciarek)

Na podstawie przeprowadzonych badań własnych stwierdzono, że skuteczność oddziaływania izolatu *Trichoderma harzianum* na wyizolowane gatunki grzybów była bardzo zróżnicowana. Z badań LANZIUSE i in. [2002] wynika, że grzyby strzępkowe z rodzaju *Trichoderma* cechują się dużą odpornością na wiele toksycznych związków produkowanych przez mikroorganizmy zasiedlające podłoża, co tłumaczyłoby uzyskane wyniki przeprowadzonego testu biotycznego.

Gleba zasiedlana jest przez różne gatunki mikroorganizmów, do których, oprócz grzybów, należą także bakterie. Według ŁOWIŃSKIEGO i DACHA [2006] oraz SZEMBERA [2001], w 1 g świeżej masy gleby mogą występować setki milionów, a nawet miliardy bakterii. Do czynników mających istotny wpływ na liczebność drobnoustrojów w glebie zaliczyć należy jej właściwości fizyczne i chemiczne, a w szczególności zasobność w materię organiczną, która stanowi źródło energii i składników biogennych dla mikroorganizmów zasiedlających glebę [BADURA 2006; BARABASZ, VOŘIŠEK 2002].

Zdaniem SMOLIŃSKIEJ i in. [2014], wykorzystanie izolatów *Trichoderma* znacznie przyspiesza rozkład różnorodnych odpadów, a zwłaszcza takich, jak słoma zbożowa. Potwierdzeniem tezy postawionej przez wyżej wymienionych autorów są badania własne, z których wynika, że zmniejszenie liczebności bakterii i grzybów pleśniowych od 285. do 445. dnia doświadczenia, prawdopodobnie było spowodowane wyczerpaniem źródła łatwo rozkładalnej materii organicznej w glebie. Ponadto pojawienie się wtórnych metabolitów wytwarzanych przez mikroorganizmy zasiedlające glebę w czasie rozkładu słomy mogło przyczynić się do zahamowania wzrostu i rozwoju wszystkich omawianych mikroorganizmów. NATYWA i in. [2014] stwierdzają, że bakterie nie rozwijają się w środowisku o wilgotności mniejszej niż 30%, co uzasadnia zmniejszenie liczebności bakterii między 141. a 169. dniem doświadczenia w I, III, IV i VI wariantach. W omawianych terminach wzrostem liczebności bakterii charakteryzowały się warianty II i V (tab. 7). Prawdopodobnie było to spowodowane utrzymaniem wyższego poziomu wilgotności przez dodanie komponentu w postaci słomy z pszenicy odmiany 'Tybalt', charakteryzującej się wypełnionym rdzeniem żdźbłem, który mógł mieć wpływ na wyższy poziom wilgotności analizowanej gleby. Wzrost liczebności bakterii od 195. do 250. dnia doświadczenia we wszystkich wariantach prawdopodobnie był spowodowany ponownym doprowadzeniem inkubowanego materiału do 60% PPW w 169. dniu doświadczenia. Największe namnożenie się bakterii nastąpiło w 50. dniu inkubacji w wariantach I i V. W przypadku wariantu II w 91. dniu doświadczenia zaobserwowano największą liczebność bakterii, natomiast III wariant charakteryzowała największa liczebność w 36. dniu. W przypadku wariantu z izolatami *T. harzianum*, wariant IV charakteryzował się największą liczebnością bakterii w 50. dniu doświadczenia, wariant V w 36. dniu, natomiast wariant VI największą liczebnością bakterii charakteryzował się w 195. dniu doświadczenia. Duże różnice w występowaniu bakterii w poszczególnych wariantach mogły być spowodowane dużymi wahaniami wartości pH badanego materiału w różnych terminach analiz, a także zmianami wilgotności.

**Tabela 7.** Dynamika zmian liczebności bakterii**Table 7.** Dynamics of variability in the count of bacteria

Termin Term	Kolejny dzień Next day	Wariant doświadczenia			Variant of experiment		
		I	II	III	IV	V	VI
		liczebność, $10^3$ jtk·g <sup>-1</sup> s.m. gleby			number, $10^3$ cfu·g <sup>-1</sup> DM of soil		
1	6.	1,15	4,28	1,08	4,85	2,63	3,21
2	16.	8,70	7,45	6,14	7,32	6,02	7,72
		bez dodatku <i>Trichoderma harzianum</i> without the addition of <i>Trichoderma harzianum</i>			z dodatkiem <i>Trichoderma harzianum</i> with the addition of <i>Trichoderma harzianum</i>		
3	22.	5,43	6,56	21,35	2,85	5,98	11,50
4	36.	123,82	160,89	296,72	206,61	407,27	145,48
5	50.	373,88	131,10	133,11	565,58	132,56	68,79
6	64.	120,26	72,01	51,81	171,19	62,68	110,73
7	78.	43,49	85,68	7,65	89,18	69,44	169,49
8	91.	149,42	268,05	142,22	177,84	115,84	110,60
9	112.	88,82	149,36	197,39	68,51	180,94	172,34
10	141.	76,39	66,92	150,22	155,25	52,98	114,59
11	169.	52,38	99,18	145,42	31,51	53,71	110,61
12	195.	166,64	108,83	121,47	321,96	235,61	210,85
13	222.	135,96	146,94	176,51	163,34	167,41	167,02
14	250.	162,44	100,25	18,27	131,58	144,51	20,07
15	285.	31,38	39,14	4,28	4,23	13,21	25,32
16	313.	41,74	42,04	25,01	36,72	18,09	18,04
17	335.	26,42	22,88	54,60	53,80	15,87	65,60
18	368.	24,40	23,69	25,54	10,69	27,85	30,97
19	403.	16,11	33,12	54,32	32,95	35,98	41,57
20	445.	18,36	59,35	49,85	52,69	50,35	85,72

NIR<sub>0,01</sub> A·B = 52,66. NIR<sub>0,05</sub> A·B = 39,95. LSD<sub>0,01</sub> A·B = 52,66. LSD<sub>0,05</sub> A·B = 39,95.

Objaśnienia, jak w tabeli 2. Explanations, as in the Table 2.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

## WNIOSKI

1. Dodatek izolatu *Trichoderma harzianum* do zastosowanych wariantów doświadczalnych przyczynił się do istotnego statystycznie zmniejszenia liczebności grzybów pleśniowych.

2. Rodzaj wykorzystanej słomy nie miał wpływu na liczebność analizowanych mikroorganizmów.

3. Jednym z czynników wpływających na zmianę liczebności grzybów pleśniowych oraz bakterii była zmiana wartości pH w analizowanych wariantach doświadczalnych.

4. Wprowadzony izolat *Trichoderma harzianum* najlepiej rozwijał się w wariancie IV (400 g gleby + 0,03 g N + *Trichoderma harzianum*).

5. Zastosowanie izolatu *Trichoderma harzianum* przyczyniło się do istotnego statystycznie wzrostu liczebności bakterii, spowodowanego najprawdopodobniej udostępnieniem materii organicznej rozkładanej słomy.

6. Wykorzystanie preparatów mikrobiologicznych, w skład których wchodzi *Trichoderma harzianum*, może przyczynić się do zwiększenia tempa rozkładu materii organicznej w postaci resztek poźniwnych.

### Podziękowanie

Dziękujemy Pani dr Magdalenie Szczech z Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach za udostępnienie izolatu *Trichoderma harzianum* w celu prowadzenia badań do niniejszej publikacji.

### BIBLIOGRAFIA

- ALTMORE C., NORVELL W.A., BJÖRKMAN T., HARMAN G. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 65 s. 2926–2933.
- BADURA L. 2006. Rozważania nad rolą mikroorganizmów w glebie [Reflections on the role of microorganisms in the soil]. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu*. Z. 89(546) s. 13–23.
- BARABASZ W., VOŘÍŠEK K. 2002. Bioróżnorodność mikroorganizmów w środowiskach glebowych [Biodiversity of microorganisms in soil environments]. W: *Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach* [Microbial activity in different environments]. Pr. zbior. Red. W. Barabasz. Kraków. Wydaw. AR s. 23–34.
- BARBOSA M.A.G., REHN K.G., MENEZES M., MARIANO R.R. 2001. Antagonism of *Trichoderma* species on *Cladosporium herbarum* and their enzymatic characterization. *Brazilian Journal of Microbiology*. Vol. 32 s. 98–104.
- BENITEZ T., RINCON A.M., CODON A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*. Vol. 7 s. 249–260.
- BIS H. 2002. Występowanie grzybów toksynotwórczych w środowisku glebowym [The occurrence of fungal toxin in the soil environment]. W: *Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach* [Microbial activity in different environments]. Pr. zbior. Red. W. Barabasz. Kraków. Wydaw. AR s. 35–42.
- BŁASZCZYK M., FIT M. 2004. Sukcesja mikroorganizmów w czasie kompostowania odpadów organicznych. W: *Woda–ścieki–odpady w środowisku. Biologiczne przetwarzanie stałych odpadów organicznych* [The succession of microorganisms during the composting of organic waste. In: *Water-waste-waste in the environment. Biological processing of solid organic waste*]. Materiały VII Konferencji Naukowo-Technicznej. Zielona Góra, 9–10 września 2004 r. s. 24–29.
- BUSKO M., CHELKOWSKI J., POPIEL D., PERKOWSKI J. 2008. Solid substrate bioassay to evaluate impact of *Trichoderma* on trichothecene mycotoxin production by *Fusarium* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 88(3) s. 536–541.
- CHELKOWSKI J. 1985. Mikotoksyny, grzyby toksynotwórcze, mikotoksykozy [Mycotoxins, fungus toxinogenic]. Warszawa. Wydaw. SGGW ss. 95.

- CZAJKA W., DAMSZEL M. 2005. Nawożenie mineralne jako czynnik kształtujący zbiorowiska grzybów w środowisku uprawnym ziemniaka [Mineral fertilization as a factor shaping the communities of fungi in the environment cultivated potato]. Inżynieria Ekologiczna. Nr 13 s. 50–51.
- GALUS-BARCHAN A., PAŚMIONKA I. 2014. Występowanie wybranych mikroorganizmów w glebie na obszarze Puszczy Niepołomickiej ze szczególnym uwzględnieniem grzybów pleśniowych [Prevalence of selected microorganisms in the soil in the area of Niepołomice Forest with special emphasis on fungus fungi]. Polish Journal of Agronomy. Nr 17 s. 11–17.
- HARMAN G.E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perception derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease. Vol. 84 s. 377–393.
- KREDICS L., ANTAL Z., MANCZIGER L., SZEKERES A., KEVEI F., NAGY E. 2003. Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. Food Technology and Biotechnology. Vol. 4 s. 37–42.
- LANZIUSE S., RUOCCO M., SCALA V., WOO S.L., VINALE F., DEL SORBO G., LORITO M. 2002. Cloning of ABC transporter-encoding genes in *Trichoderma* spp., to determine their involvement in biocontrol. Journal of Plant Pathology. Vol. 84 ss. 184.
- ŁOWIŃSKI L., DACH J. 2006. Termofilne kompostowanie liści kasztanowca z osadami ściekowymi jako metoda unieszkodliwiania zagrożenia szrotówkiem kasztanowcowiaczką [Thermophilic composting of horse chestnut leaves with sewage sludge as a method of reduction of contamination by *C. ohridella*]. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering. Vol. 51(2) s. 108–111.
- MALICKI L., MICHAŁOWSKI C. 1994. Problem międzyplonów w świetle doświadczeń [The problem intercrop in the light of experience]. Postępy Nauk Rolniczych. Nr. 4 s. 3–18.
- MAŃKA K. 1974. Fungal communities as criterion for estimating the effect of the environment of plant disease in Poland. Postępy Nauk Rolniczych. Nr. 160 s. 9–23.
- MARTIN J.P. 1950. Use of acid, rose Bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. Soil Science. Vol. 69 s. 215–232.
- NATYWA M., SELWET M., MACIEJEWSKI T. 2014. Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na liczebność i aktywność drobnoustrojów glebowych [The effect of selected agrotechnical factors on the abundance and activity of soil microorganisms]. Fragmenta Agronomica. Vol. 31(2) s. 56–63.
- PAPAVIZAS G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Biology ecology, and potential for biocontrol. Annual Review of Phytopathology. Vol. 23 s. 23–54.
- PTG 2011. Systematyka gleb Polski [Polish Soil Classification]. Wyd. 5. Roczniki Gleboznawcze. T. 62(3) ss. 193.
- SMOLIŃSKA U., KOWALSKA B. KOWALCZYK W., SZCZECH M. 2014. The use of agro-industrial wastes as carriers of *Trichoderma* fungi in the parsley cultivation. Scientia Horticulturae. Vol. 179 s. 1–8.
- SZEMBER A. 2001. Zarys mikrobiologii rolniczej [Outline of agricultural microbiology]. Lublin. Wydaw. AR. ISBN 83-7259-043-5 ss. 215.
- TYSZKIEWICZ Z. 2010. Grzyby wybranych gleb torfowo-murszowych słabo zmurszałych północnej części Narwiańskiego Parku Narodowego [Soil fungi of selected poorly decomposed peat-muck soils in northern part of the Narew National Park]. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 10. Z. 1(29) s. 211–218.
- VAN VEEN J.A., PAUL E.A. 1981. Organic C dynamics in grassland soils. Background information and computer stimulation. Canadian Journal of Soil Science. Vol. 61 s. 185–201.
- WATANABE T. 2010. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. 3rd edition. ISBN 978-1-4398-0419-3 ss. 403.

- WOJTKOWIAK-GĘBAROWSKA E. 2006. Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma* [Mechanisms of biological contro soil-borne plant patogen by fungus from genus *Trichoderma*]. Postępy Mikrobiologii. Vol. 45 s. 261–273.
- WONG J.W.C., FANG M. 2000. Effects of lime addition on sewage sludge composting process. Water Research. Vol. 34(15) s. 3691–3698.
- ZIELIŃSKA K., STECKA K., SUTERSKA A., MIECZNIKOWSKI A. 2007. Wpływ ekologicznej technologii kiszenia runi łąkowej na hamowanie rozwoju pleśni wytwarzających mikotoksyny [The impact of ecological technology pickling sward on the inhibition of the growth of molds that produce mycotoxins]. Problemy Inżynierii Rolniczej. Nr 1(55) s. 61–70.

Donata KOSICKA-DZIECHCIAREK, Natalia TATUŠKO

### THE INFLUENCE OF *Trichoderma harzianum* ISOLATE AND WHEAT STRAW ON THE NUMBERS OF FUNGI AND BACTERIA IN SOIL

**Key words:** moulds, *Trichoderma harzianum*, wheat straw

#### S u m m a r y

The study determined the influence of the *Trichoderma harzianum* isolate on the count of autochthonous microorganisms in soil enriched with ‘Ostka Smolicka’ and ‘Tybalt’ wheat straw cultivars. The experiment was conducted in a laboratory on samples of surface lessive soil, belonging to soil valuation class IVb and good rye complex. Determination of the number of molds including *Trichoderma* sp. was carried out using the Koch plaque method using selective media. The study proved that the *Trichoderma harzianum* isolate exhibited diversified influence on microorganisms in individual combinations. Mańka tests proved antagonism between the isolate and moulds isolated in the experiment (*Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp.). Experiments conducted in co-cultures on a PDA substrate proved that the *T. harzianum* inhibited the development of *Rhizopus* sp. to the greatest extent. The application of the selected isolate caused a decrease in the count of filamentous fungi and an increase in the bacteria count. Wheat straw added to the soil did not increase the count of the *Trichoderma* strain.

**Adres do korespondencji:** mgr inż. Donata Kosicka-Dziechciarek, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań; tel. + 48 61 848-71-94, e-mail: donatadz@up.poznan.pl