

Міністерство освіти і науки України  
Львівський національний університет імені Івана Франка  
Біологічний факультет  
Кафедра фізіології та екології рослин

## **КВАЛІФІКАЦІЙНА (МАГІСТЕРСЬКА) РОБОТА**

Тема:

**Вплив біовугілля на ростові показники та вміст фенольних сполук у  
рослин черешні *Prunus sp.* в умовах *in vitro***

Здобувачки II курсу  
другого (магістерського) рівня вищої освіти  
спеціальності 091 Біологія та біохімія  
освітньо-професійної програми “Фізіологія рослин”

**Войтків Анастасії Юріївни**

**Керівник:** доц. кафедри фізіології та екології рослин,

канд. біол. н. **М.С. Кобилецька**

**Рецензент:** доц. кафедри ботаніки,

канд. біол. н. **А. В. Одінцева**

Львів – 2024



## Зміст

1. Вступ.....	4
2. Огляд літератури.....	6
2.1. Роль біочару і його використання.....	6
2.1.1. Дослідження по міскантусовому біочару.....	9
2.2. Біочар для збереження вуглецю в ґрунті та продуктивності сільськогосподарських культур.....	10
2.2.1. Вплив міскантусового біочару на ґрунт.....	16
2.2.2. Використання біочару при фіторемедіації контамінованих ґрунтів.....	18
2.2.3. Вплив біочару з міскантусу на кількість та якість рослинної біомаси.....	21
2.2.4. Вплив міскантусового біочару на мікробну біомасу та різноманітність ґрунтової фауни.....	22
2.2.5. Порівняння біочару міскантусу з біочаром, отриманим з іншої сировини.....	24
2.2.6. Порівняння впливу на характеристики ґрунту.....	25
2.2.7. Біочар для покращення якості плодівих культур.....	26
2.3. Використання біочару в умовах <i>in vitro</i> .....	30
2.4. Використання активованого вугілля в умовах <i>in vitro</i> .....	33
3. Матеріали та методи досліджень.....	37
3.1. Склад і приготування поживного середовища.....	37
3.2. Процес культивування <i>in vitro</i> . ....	37
3.3. Визначення морфометричних показників у пагонах черешні ( <i>Prunus cerasus</i> x <i>Prunus canescens</i> ) сорту Gisela 6.....	38
3.4. Фотометричний метод кількісного визначення вмісту фенольних сполук у рослинному матеріалі.....	38

3.5. Статистичний аналіз.....	39
4. Результати досліджень .....	40
4.1. Вплив біочару (1) на морфометричні показники черешні сорту Gisela 6.....	41
4.2. Вплив біочару (1) на вміст фенольних сполук черешні сорту Gisela 6.....	42
4.3. Вплив біочару (2) на морфометричні показники черешні сорту Gisela 6.....	44
4.4. Вплив біочару (2) на вміст фенольних сполук черешні сорту Gisela 6.....	46
4.5. Вплив активованого вугілля на морфометричні показники черешні сорту Gisela 6.....	47
4.6. Вплив активованого вугілля на вміст фенольних сполук черешні сорту Gisela 6.....	48
5. Висновки.....	50
6. Список літератури.....	51

## Вступ

Біочар - це нова та перспективна біодобавка для підвищення врожайності на кислих, деградованих ґрунтах з низькою родючістю. Потенційний замітник, який називають біовугіллям або біочаром, має здатність покращувати фізичні, хімічні та біологічні властивості ґрунту.

Він широко використовується в фіторемедіації, як один з методів очищення вод, ґрунтів і атмосферного повітря з використанням зелених рослин. Також як добриво для покращення якості ґрунтів та продуктивності сільськогосподарських культур.

Проте, вплив біочару як компонента поживного середовища в культурі *in vitro* досі не достатньо вивчено. Покращення умов культивування та модифікація поживних середовищ є важливим етапом в отриманні кращих характеристик культури, збільшення кількості отриманого рослинного матеріалу та підвищення економічної ефективності методу [1].

Заміна активованого вугілля біовугіллям може з'явитися як підхід «недорогої технології культивування тканин», що знижує собівартість одиниці продукції рослинництва без шкоди для якості рослин [2].

Важливою проблемою при культивуванні рослин в умовах *in vitro* є збереження якості культури. Тому, було вирішено перевірити ефективність використання біочару (БЧ) як добавки, в першу чергу його вплив на показники рослин.

Об'єкт досліджень – ростові і морфометричні показники черешні *Prunus cerasus* x *Prunus canescens* сорту Gisela 6 за різних концентрацій БЧ(1), БЧ(2) та активованого вугілля АВ у поживному середовищі. Предмет досліджень – зміни ростових і морфометричних показників, вміст фенольних сполук під впливом БЧ(1), БЧ(2) та активованого вугілля АВ .

Тому, метою даної роботи було перевірити вплив біочару у різних концентраціях на морфологічні і біохімічні показники сорту черешні Gisela 6 у порівнянні з активованим вугіллям.

## 2. Огляд літератури

### 2.1. Роль біочару та його використання

Біовугілля або біочар (БЧ) – це багатий на вуглець продукт, отриманий шляхом піролізу біомаси в умовах низького вмісту  $O_2$  [3]. Спочатку він використовувався як доповнення до ґрунту для підвищення продуктивності сільськогосподарських угідь, за рахунок підвищення ферментативної активності в ґрунті, покращення архітектури кореневої системи та параметрів росту в поганих ґрунтових умовах, сприяння кругообігу поживних елементів та мікробної біомаси [4,5]. Він також є ефективним біосорбентом для детоксикації забруднювачів ґрунту та води, включаючи токсичні метали, радіонукліди, поведження з органічними відходами [6].

Існують різні способи виробництва біовугілля [7], але всі вони передбачають нагрівання біомаси з невеликою кількістю кисню або взагалі без нього, щоб вигнати леткі гази, залишаючи вуглець. Цей простий процес називається термічним розкладанням і зазвичай досягається шляхом піролізу або газифікації. У комерційних системах піролізу біомаси процес відбувається в три етапи:

1. втрачається волога і деякі леткі речовини;
2. залишки, що не прореагували, перетворюються на леткі речовини, гази і біогаз;
3. відбувається повільна хімічна перебудова біогазу.

Деякі дослідники виділяють сім ключових властивостей для оцінки біочару, а саме: рН, вміст летких сполук, зольність, водоутримуюча здатність, насипна щільність, об'єм пор і питома поверхня. Всі ці властивості залежать від якості сировини, яка використовується для виробництва біочару. Крім того, температура піролізу та тривалість

піролізу є двома іншими найбільш важливими процесами, які впливають на фізико-хімічні властивості біочару. Підвищення температури піролізу з 400°C до 600°C зменшує вміст летких та азотних компонентів у біочарі, в той же час збільшує вміст золи та фіксованого вуглецю. Таким чином, біочар, виготовлене при 600°C, має ширше співвідношення C:N, що робить його більш стабільним у ґрунті [8].

Основна спільність між БЧ і активованим вугіллям (АВ) — спосіб їх виробництва. У даному випадку речовина, що містить вуглець – піддається дії підвищених температур за відсутності кисню, щоб він термічно розклався на вугілля, або багаті вуглецем тверді речовини. Брак кисню є ключовим фактором процесу, оскільки надлишок кисню окислить вуглець і згорить у вигляді газоподібних продуктів. Під час піролізу вихідний матеріал (або «вихідна сировина») і умови обробки можна налаштувати, щоб адаптувати продукт на основі вуглецю для конкретного застосування [9].

Якість вихідного матеріалу також може впливати на його ефективність у переробці, його кінцеве застосування та вплив, який він може мати на навколишнє середовище. Умови обробки включають температуру та тривалість піролізу, розмір частинок, вміст вологи та активацію, що покращує ефективність вуглецевого матеріалу за рахунок збільшення його пористості та площі поверхні [9].

Активація зазвичай виконується одним із двох процесів:

Фізичні процеси включають активацію парою, під час якої пара вводиться для видалення вуглецю з уже обвугленого (або «карбонізованого») матеріалу при вищих температурах. Цей процес відкриває пори вуглецю для збільшення його площі поверхні.

Хімічні процеси включають змішування вихідного матеріалу, такого як деревина, з хімічною речовиною, як-от фосфорна кислота, а потім

висушування та карбонізацію. Хімічна речовина запобігає усадці отриманого вугілля, утворюючи структуру з більшою пористістю [10].

Біочар та активоване вугілля також можуть бути схожими на хімічному рівні. Кожна з твердих речовин містить багато «ароматичних вуглеців», які міцно зв'язані між собою, що робить їх стабільними. Багаті вуглецем матеріали також можуть містити такі елементи, як кисень або азот, які колись були частиною вихідного матеріалу, або інші хімічні речовини, якщо тверді речовини були «завантажені» інгредієнтами, які підвищили б їх ефективність у певному застосуванні [10].

Чим відрізняється біочар від активованого вугілля: Як зрозуміло з їхніх визначень, два типи вуглецю відрізняються головним чином кінцевим застосуванням і вихідними матеріалами. БЧ використовується для сільського господарства, а АВ для фільтрації та очищення. У той час як біовугілля може бути отримане з біомаси, то активоване вугілля також може надходити з вуглецевмісних матеріалів, які не є біомасою [11].

Деревне вугілля має характерну властивість високого поглинання колоїдних твердих речовин, газів і парів. Його виробляють шляхом перегонки деревини та інших вуглецевмісних матеріалів. Природа та характерні особливості деревного вугілля відрізняються для різних цілей. Наприклад, деревне вугілля для поглинання газів твердіше і щільніше, ніж вугілля, яке використовується для очищення рідин. Поверхня АВ містить специфічні області в діапазоні від 600 до 2000 м<sup>2</sup> г<sup>-1</sup>, розподіл пор коливається від 10 мкм до 500 мкм [12].

### 2.1.1. Дослідження по міскантусовому біочару

Щоб пройти повний цикл вироблення міскантусу, що включає виробництво, обробку, перетворення в енергію та біопродукцію, відходи, накопичені в результаті цих процесів, повинні бути повернуті у виробничий процес, щоб забезпечити стале використання сировини, знизити витрати та забезпечити безвідходний підхід. Цього можна досягти шляхом перетворення сировини міскантусу на біогаз та біовугілля за допомогою піролізу, а потім повернення біовугілля у виробничий цикл вирощування міскантусу у фітотехнологіях на забруднених мікроелементами та малородючих землях.

Існують різні способи виробництва біовугілля, але найпоширенішими термохімічними процесами:

- Піроліз
- Гідротермальна карбонізація (ГТК) - зосереджена на використанні вологої біомаси для отримання карбонового біопалива, а біовугілля є побічним продуктом [13, 14].
- Газифікація - процес у якому біомасу нагрівають у присутності невеликої кількості повітря для отримання синтез-газу як основного продукту та біомаси як побічного продукту [13,15], (останній був корисним для продуктивності ґрунту та рослинної біомаси [16]).
- Торрефікація - хімічна обробка біомаси, що здійснюється за відсутності кисню та атмосферного тиску [17, 18]. (Біочар з міскантусу, отриманий шляхом тор-реакції, має найнижчий вміст вуглецю порівняно з продуктами, отриманими повільним піролізом та ГТК [14]).

Отриманий продукт може відрізнятися залежно від застосованої термохімічної технології, що впливає на зміну його властивостей, тобто рН, зольності, площі поверхні та фізико-хімічних властивостей [13, 19].

## **2.2. Біочар для збереження вуглецю в ґрунті та продуктивності сільськогосподарських культур**

Додавання біочару до ґрунту призводить до покращення рівня рН ґрунту, доступності поживних речовин, поглинання вологи та поглинання вуглецю. Стимулюючи активність ґрунтових мікроорганізмів, біочар підвищує родючість ґрунту та його вологоємну здатність, що, в свою чергу, сприяє зростанню та врожайності сільськогосподарських культур [20, 21].

Ґрунт зберігає втричі більше вуглецю, ніж атмосфера. Ґрунтовий вуглець має вирішальне значення для родючості ґрунту, кругообігу поживних речовин, рослинництва та різних екосистемних послуг. Наразі існує значний дисбаланс між викидами вуглецю в атмосферу та його поглинанням рослинами в процесі фотосинтезу, що призводить до постійного збільшення вмісту вуглекислого газу в атмосфері в довгостроковій перспективі. Як засіб протидії впливу зміни клімату шляхом секвестрування вуглецю в ґрунті було запропоновано використовувати його у ґрунті з метою досягнення більшого накопичення вуглецю в ґрунті. Секвестрація ґрунтового вуглецю (С) означає перенесення атмосферного CO<sub>2</sub> в ґрунт земельної ділянки за допомогою рослин. Для того, щоб поглинати вуглець, матеріал повинен мати тривалий час перебування в ґрунті і бути стійким до хімічних процесів, таких як окислення до CO<sub>2</sub> або відновлення до метану. Внесення біомаси є правильним рішенням, оскільки вона здатна покращити родючість ґрунту, сприяти росту рослин та підвищити врожайність сільськогосподарських культур. Більше того, біочар має довготривалу стабільність у ґрунті протягом тисяч років завдяки високому рівню рН, великій площі поверхні та чудовій здатності утримувати воду і поживні речовини [22, 23].

Органічний вуглець ґрунту є одним з життєво важливих факторів глобального вуглецевого циклу, який відіграє значну роль у різних екологічних послугах, таких як підтримання родючості ґрунту, біорізноманіття та продовольчої безпеки. Ґрунт є третім за величиною глобальним резервуаром вуглецю після океанічного резервуару (38000 Pg) та резервуару викопного вуглецю (5000 Pg). Довгострокова стійкість екосистем залежить від здорових і продуктивних ґрунтів. Органічний вуглець ґрунту визнаний одним з найважливіших показників для оцінки деградації земель та якості ґрунтів. Перетворення природних та сільськогосподарських екосистем призводить до зменшення наземних резервуарів (біотичного та ґрунтового вуглецю). Зменшення також спричинене видаленням багаторічного рослинного покриву (наприклад, дерев, чагарників, трав), ерозією ґрунту, надмірним випасанням худоби тощо. Таким чином, кількість біомаси вуглецю, що повертається до ґрунту, є нижчою в сільськогосподарських екосистемах, ніж у природних. Тому постійно впроваджуються різні стратегії управління, спрямовані на накопичення та секвестрацію вуглецю в ґрунті. Біочар як доповнення до ґрунту має потенціал для щорічного поглинання вуглецю, що дорівнює 12 % від поточних антропогенних викидів CO<sub>2</sub>. Також з наукових джерел відомо, що найбільш стійкий потенціал поглинання вуглецю з біочару становить 1-1,8 Гт вуглецю на рік. Застосування біочару сприяє підвищенню продуктивності сільськогосподарських культур за рахунок збільшення запасів поживних речовин у ґрунті та мікробіологічної активності, а також зменшення вимивання поживних речовин. Кілька досліджень у відкритому ґрунті та контрольованому середовищі показали, що біовугілля має потенціал для накопичення вуглецю та підвищення врожайності на багатьох типах ґрунтів, особливо на ґрунтах з низьким вмістом поживних речовин [22].

Біочар, виготовлений з різних видів біомаси (сировини), характеризується різними морфологічними та хімічними властивостями, які також відрізняються залежно від конкретних умов піролізу, тобто кінцевої температури піролізу або пікової температури, швидкості обвуглювання або швидкості наростання, а також тривалості часу обвуглювання. Біовугілля стало потенційним кандидатом для довгострокового поглинання вуглецю завдяки своїй вбудованій структурі та вищій стабільності. Перехід від традиційної культури «підсікання і спалювання» до культури «підсікання і обвуглювання» може призвести до поглинання вуглецю з атмосфери. Біовугілля як доповнення до ґрунту може підвищити родючість ґрунту і підтримати продуктивність сільськогосподарських культур за рахунок поліпшення доступності поживних речовин при одночасному зменшенні втрат від вимивання [23].

Секвестрація вуглецю в ґрунті: Секвестрація вуглецю в ґрунті – це видалення атмосферного CO<sub>2</sub> шляхом фотосинтезу з утворенням органічної речовини, яка зрештою зберігається в ґрунті у вигляді довгоіснуючих, стабільних форм “С”. Глобальний цикл вуглецю складається з потоку вуглецю в басейни екосистеми. Біочар забезпечує легкий потік вуглецю з активного стану в пасивний. Перетворення вуглецю біомаси на біочар призводить до поглинання приблизно 50% початкового вуглецю порівняно з невеликими кількостями, що зберігаються після спалювання (3%) і біологічного розкладання (менше 10-20% через 5-10 років). Велика кількість вуглецю в біочарі може поглинатися в ґрунті протягом тривалого періоду часу, за оцінками, від сотень до тисяч років. У той час як біочар мінералізується в ґрунтах, частина його залишається в дуже стабільній формі; ця властивість біочару забезпечує йому потенціал бути основним поглиначем вуглецю. Основними механізмами, що діють у ґрунті, за допомогою яких біочар, що надходить у ґрунт, стабілізується та значно збільшує час його перебування в ґрунті, є власна неподатливість,

просторове розділення розкладачів та субстрату та формування взаємодії між мінеральними поверхнями. Довгострокові поглинання вуглецю біочаром також є результатом повільного мікробного розкладання та хімічної трансформації. Застосування біовугілля в ґрунті створює новий підхід до встановлення значного довгострокового поглинання атмосферного вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) у наземних екосистемах. Зміна ґрунту біочаром може щорічно поглинати С, що дорівнює 12 % нинішнього антропогенного викиду  $\text{CO}_2$ . Також повідомляється, що найбільш стійкий потенціал поглинання С з біочаром становить 1-1,8 Гт С щорічно до 2050 року. Отже, піроліз біомаси та зберігання в ґрунті можуть поглинати С до кількох сотень гігатонн виділення С і можуть бути компенсовані до 2100 р., що є основною частиною загального поглинання С, необхідного для кращої продуктивності сільськогосподарських культур і здоров'я ґрунту. На рисунку [1] показано механізм, за допомогою якого біочар діє як поглинач вуглецю. Таким чином, виробництво біочару з біовідходів може не тільки виступати в якості багатообіцяючого прекурсора для поглинання  $\text{CO}_2$ , але також стало стійкою стратегією управління твердими відходами [23].

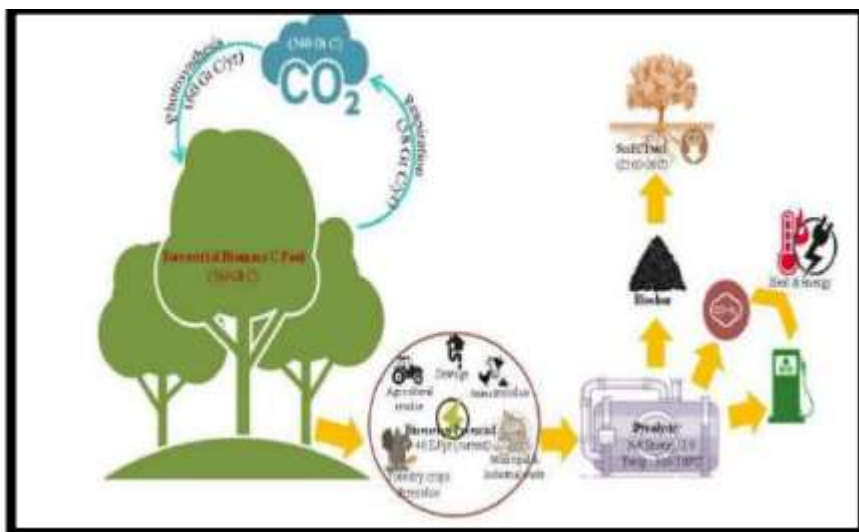


Рис 1. Діаграма, що показує поглинання вуглецю ґрунтом, спричинене біовугіллям.

Покращені фізичні, хімічні та біологічні властивості ґрунту є бажаними для оптимального росту та розвитку рослин. Відомо, що застосування біочару в ґрунті має значний вплив на різні властивості ґрунту. Висока пористість біочару покращує широкий спектр фізичних властивостей ґрунту, таких як загальна пористість, щільність ґрунту, вміст вологи в ґрунті та водоутримувальна здатність. Окрім цього, біочар завдяки своїй високій здатності утримувати поживні речовини зменшує втрату поживних речовин через вимивання, що, у свою чергу, підвищує ефективність використання добрив рослиною. Пориста структура біовугілля забезпечує середовище проживання мікробів у ґрунті та захищає їх від хижаків. Таким чином, біочар можна ефективно використовувати як доповнювач ґрунту для покращення його загальної якості сталим, економічним та екологічно чистим способом. Доповнення ґрунту біочаром покращує продуктивність сільськогосподарських культур головним чином за рахунок підвищення ефективності використання поживних речовин і здатності утримувати воду. Однак покращення у виробництві сільськогосподарських культур часто фіксується на сильно деградованих і бідних поживними речовинами ґрунтах, тоді як його застосування на родючих і здорових ґрунтах не завжди підвищує врожайність. Застосування біовугілля може істотно підвищити родючість ґрунту та продуктивність сільськогосподарських культур. Підвищення врожайності є загальновизнаною перевагою застосування біочару; однак реакція культур сильно варіюється і залежить від типу біочару та норм внесення, властивостей ґрунту та кліматичних умов. Спричинене біовугіллям збільшення питомої площі поверхні, пористості ґрунту, водоутримуюча здатність, утримання поживних речовин і ефекту вапнування головним чином відповідає за підвищення продуктивності сільськогосподарських культур. Наприклад, біовугілля, отримане із золи біомаси

сільськогосподарських культур, може стати джерелом фосфору, як і комерційне добриво з фосфором і калієм. Уточнення, біочар має синергічний ефект з добривами для підвищення врожайності. Біочар не тільки покращує продуктивність сільськогосподарських культур за звичайних умов, але також підвищує врожайність сільськогосподарських культур за несприятливих умов, таких як засолення та посуха, застосування біовугілля на бідних піщаних ґрунтах покращує ріст рослин за рахунок покращення водних відносин “ґрунт-рослина” (покращення відносного вмісту води та осмотичного потенціалу листя) та фотосинтезу (зниження резистентності проростків і стимуляція фотосинтезу за рахунок збільшення швидкості транспорту електронів фотосистеми II) за умов доброго поливу та умов посухи. Проте певні ризики, такі як потенційне джерело токсикантів, утримання важких металів і пригнічення ефективності застосованих пестицидів через утримання та екотоксикологічний вплив на ґрунтові мікроби, пов’язані з додаванням біочару в орні землі [22].

Секвестрація вуглецю є потенційним варіантом пом’якшення вуглецевого дисбалансу, оскільки більшість орних ґрунтів виснажені запасами органічного вуглецю. Додавання біочару до оброблюваної землі може бути потенційним інструментом для поглинання С шляхом додавання основної маси С, стійкого до розкладання. Після додавання в ґрунт біочару є стабільним із потенціалом для зберігання ґрунтового С протягом кількох сотень років і може забезпечити інші переваги, такі як покращена водоутримуюча здатність та постачання поживними речовинами. Власне кажучи, застосування біочару має потенціал для поглинання вуглецю в ґрунті та покращення врожайності на різноманітних ґрунтах у нормальних і менш ніж оптимальних умовах навколишнього середовища, якщо його підготувати та використовувати з розумом [20].

### **2.2.1. Вплив міскантусового біочару на ґрунт**

Щоб визначити вплив на поглинання мікроелементів рослинами, виробництво біомаси та процеси екосистеми, було оцінено: температуру піролізу, час перебування та норм внесення біовугілля міскантусу в ґрунт. Ці змінні є вирішальними для визначення конкретного типу біовугілля в ґрунті [19, 24, 25]. Додавання біовугілля міскантусу до ґрунту призвело до підвищення рН ґрунту, загального вмісту вуглецю та вмісту поживних речовин у ґрунті (К, Mg та P). Луо та ін. [25, 26, 27] встановили, що додавання біовугілля міскантусу, приготовленого при 350°C і 700°C, до кислого ґрунту (рН 3,7) підвищило рН ґрунту до 4,4 і 5,1 відповідно, а до лужного ґрунту (рН 7,6) до 7,7 і 8,0 відповідно. При інкубації біовугілля міскантусу, приготованого при різних температурах (350 і 700°C), рН ґрунту та вміст кальцію збільшувався, коли біовугілля виробляли при 700°C. Крім того, повідомлялося про зниження загальної концентрації мікроелементів (Al, Pb та Zn) [26, 27]. Екстракційність мікроелементів зменшилася в біовугіллі, отриманому при вищих температурах піролізу, тоді як загальний вміст вуглецю та загальний вміст азоту в зміненому ґрунті залишилися незмінними, 0,59% та 0,12% відповідно. РН ґрунту та вміст поживних речовин збільшувалися зі збільшенням норми внесення біовугілля міскантусу [27, 28, 29]. Екстракційність мікроелементів зменшилась із збільшенням норми застосування біовугілля міскантусу [27], а вміст поживних речовин у ґрунті збільшився [27, 28]. Площа поверхні біовугілля міскантусу збільшилася зі збільшенням температури піролізу, тобто: біовугілля з температурою піролізу 450°C має площу поверхні приблизно 10 м<sup>2</sup>г<sup>-1</sup>, тоді як біовугілля з температурою піролізу 600°C має площу поверхні приблизно 183 м<sup>2</sup>г<sup>-1</sup>. Однак висновки Budai et al. [29], що узгоджується з Ronsse et al. [30, 31] для іншої сировини вказав, що підвищення температури піролізу вище >600°C до приблизно 800°C призвело до зменшення площі поверхні з 183 м<sup>2</sup>г<sup>-1</sup> до 62 м<sup>2</sup>г<sup>-1</sup>. Це можна пояснити реструктуризацією біовугілля, пов'язаною з вищою

температурою, що спричиняє початок танення золи [30]. Підводячи підсумок, коли біовугілля міскантусу додається до ґрунту, це підвищує рН ґрунту, поживні речовини (N, P, Mg і K) і зменшує поглинання мікроелементів (Al, Zn і Pb).

Площа поверхні міскантусового біочару збільшується з підвищенням температури однак, після досягнення температури 600°C подальше підвищення температури зменшує цей параметр [29]. Пористість міскантусового біочару є ще одним важливим параметром для покращення властивостей ґрунту, що впливає на його властивості. Висока внутрішня поверхня і пористість міскантусового біовугілля роблять матеріал більш ефективним для видалення ґрунтових забруднювачів, оскільки це збільшує адсорбційну здатність біовугілля до органічних сполук і мікроелементів та впливає на його сорбційну здатність до мікроелементів [31]. Об'єм пор міскантусового біочару збільшується зі збільшенням температури піролізу: при виробництві міскантусу при 300°C об'єм пор дорівнював 0,0023 см<sup>3</sup> г<sup>-1</sup> [28], тоді як температура піролізу 750°C призвела до об'єму пор, що дорівнював 0,19 см<sup>3</sup> г<sup>-1</sup> [32].

### **2.2.2. Використання біочару при фіторе mediaції контамінованих ґрунтів**

Фітотехнології для відновлення слабо- та помірно забруднених земель є економічно ефективною альтернативою традиційним технологіям *in situ* [33, 34]. Фітостабілізація - це тип фітотехнології, спрямований на іммобілізацію забруднювачів у забрудненому субстраті шляхом створення рослинності поверх забрудненого матеріалу [35] і вважається тимчасовим або довгостроковим рішенням для локалізації забруднених територій, таких як гірничодобувні або військові об'єкти [35, 36]. Цей процес можна покращити шляхом внесення органічних та неорганічних добрив [37, 38]; популярним стало внесення багатих на вуглець речовин [39, 40, 41]. Цей

підхід дозволяє покращити ріст, розвиток рослин та зібрану біомасу і водночас впливає на поведінку мікроелементів в ґрунті [26]. Кілька досліджень підкреслили здатність біовугілля, виготовленого з різної сировини, обмежувати рухливість і доступність мікроелементів в ґрунтах [26, 35, 42]. Puga та ін. [43] показали зниження концентрацій телуру (Cd, Pb і Zn) у пористих водах і рослинності гірничодобувних забруднених телуром ґрунтів після обробки їх біовугіллям. Однак, деякі дослідження, включаючи випадки, коли додавання деревного вугілля знижувало концентрації водорозчинних Cu і Cd у ґрунті, але залишало концентрації в дощових черв'яках незмінними, показали неоднозначні результати [44]. Дослідження з використанням міскантусового біочару для зменшення вмісту різних мікроелементів (Cd, Cu, Pb і Zn) у ґрунті (рис. 2).

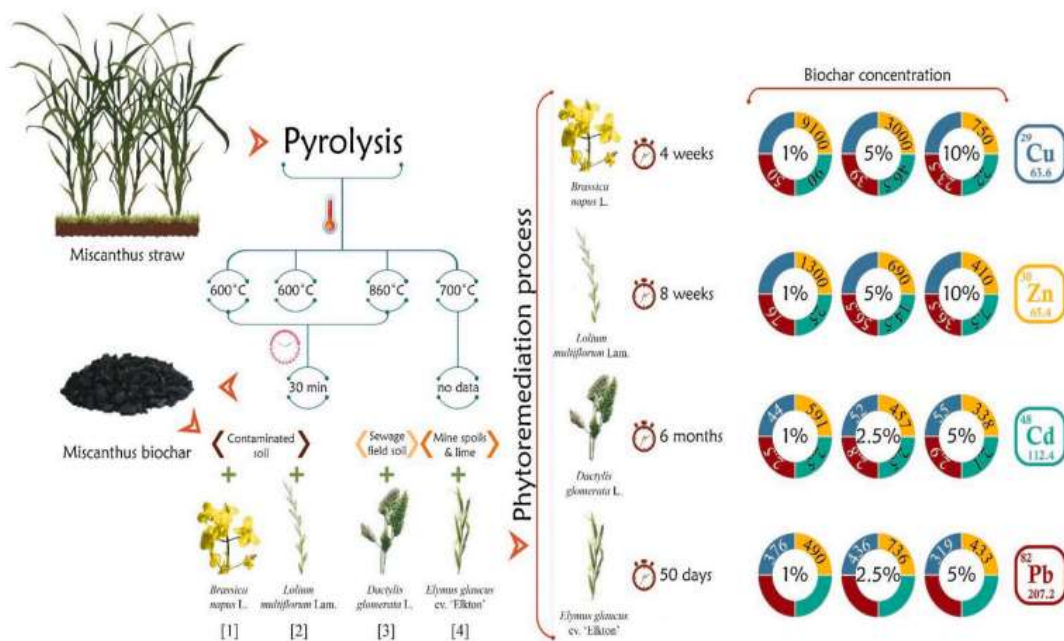


Рис. 2. Вплив внесення біовугілля міскантусу в забруднений ґрунт на фітореMediaційну поведінку мікроелементів (1 – Houben et al. [26]; 2 – Houben et al. [45]; 3 – Wagner and Kaupenjohann [46]; 4 – Novak et al. [47]).

У всіх дослідженнях, проведених в умовах горщиків, застосовували різні норми внесення міскантусового біочару. Результати показують, що на

процес фіторе mediaції головним чином впливали два фактори: температура піролізу та норма внесення. Концентрація мікроелементів в пагонах ріпаку та райграсу зменшувалася зі збільшенням норми внесення міскантусового біочару [48]. Однак Houben та ін. [26] повідомили, що для ріпаку не було виявлено суттєвої різниці у зниженні вмісту мікроелементів при збільшенні норми внесення біочару. Wagner і Kaupenjohann [46] показали, що збільшення норми внесення міскантусового біовугілля, виробленого при температурі вище 860°C, знижує концентрацію Zn у садовій траві, тоді як концентрації Cu і Pb зростають зі збільшенням дози біочару. Новак та ін. [47] вказали, що застосування міскантусового біочару, виробленого при температурі 700°C, призвело до значного зниження концентрацій Cu і Zn у пагонах голувої черемхи: цей ефект був очевидним при обробці дозами 1%+вапно і 5%+вапно. Однак, не очікувано, за помірної дози внесення 2,5% біочару + вапно поглинання Cu та Zn в органах рослини збільшилося. Janus та ін. [49] оцінили вплив міскантусового біочару, отриманого з міскантусу, вирощеного в ґрунті, забрудненому Cd, Pb і Zn. Для виробництва використовували чотири різні режими піролізу (400°C/45 хв; 400°C/90 хв; 600°C/45 хв; 600°C/90 хв), а отриманий біочар з міскантусу вносили в дозі 2% у той самий забруднений ґрунт, в якому вирощували райграс. Результати показали, що внесення біочару не змінило фітодоступність мікроелементів для райграсу; однак вирощування райграсу змінило біодоступність мікроелементів особливо коли ґрунт був доповнений міскантусовим біочаром, приготованим за температури 600°C [48]. Додавання міскантусового біочару, виготовленого при 600°C, значно зменшило вміст мікроелементів (Cd, Pb і Zn) у рослині. Застосування міскантусового біочару, отриманого при вищій температурі піролізу, мало певний вплив на зменшення поглинання мікроелементів, але не суттєвий [48]. Що стосується впливу норми внесення на фітопараметри, опубліковані результати дають неоднозначні висновки, оскільки більшість досліджень не

виявили суттєвої різниці у зменшенні поглинання мікроелементів між різними нормами внесення міскантусового біочару. Однак, Houben та ін. [49] показали значні відмінності між різними нормами внесення міскантусового біочару та поглинанням мікроелементів райграсом, які були найсильнішими при нормі внесення біочару 5%. Houben та ін. [26] вказали, що підвищення рН ґрунту під час внесення міскантусового біочару є фактором, що сприяє зменшенню поглинання мікроелементів з ґрунту. Біовугілля, вироблене за вищих температур, має вищий рН, що, відповідно, підвищує рН зміненого ґрунту, і ефект є сильнішим, якщо застосовувати його в більших кількостях. Біочар з міскантусу, отриманий при температурі піролізу 600°C і внесений в ґрунт у дозі 1%, призвело до підвищення рівня рН-CaCl<sub>2</sub> ґрунту з 5,62 до 5,65, тоді як той самий біочар, внесений в ґрунт у вищій дозі 10%, призвело до підвищення рівня рН-CaCl<sub>2</sub> ґрунту до 6,7 [26]. Kosolsaksakul та ін. [50] вказують на значне зниження вмісту кадмію (Cd), що витягується, при додаванні 5% біочару з рисового лушпиння та 15% біочару з міскантусу. Біовугілля з міскантусу, вироблене за вищих температур і внесене з вищими нормами внесення, швидше за все, зменшує поглинання рослинами мікроелементів, однак деякі дані спростовують цей висновок [48].

### **2.2.3. Вплив біочару з міскантусу на кількість та якість рослинної біомаси**

Біочар як доповнення до ґрунту може підвищити родючість ґрунту і, таким чином, стимулювати розвиток рослин [26] та суху біомасу при збиранні врожаю [46]. Ґрунт, доповнений міскантусовим біочаром, позитивно вплинув на продуктивність різних рослин, а їхня біомаса збільшилася зі збільшенням норми внесення. У вегетаційному досліді Głab та ін. [51] сільськогосподарський ґрунт був доповнений біочаром, отриманим із соломи міскантусу шляхом 15-хвилинного піролізу при

600°C. Біовугілля використовували у дворічному експерименті з нормами внесення 1% та 2%, а насіння багаторічного райграсу (*Lolium perenne L.*) вирощували в цьому модифікованому ґрунті. Результати показали, що застосування міскантусового біочару забезпечило найбільшу надземну біомасу трави порівняно з вирощуванням у ґрунті, зміненому сирого соломомою міскантусу, та неудобреному контролі. Міскантусове біовугілля, отримане шляхом піролізу при температурі 500-700 °C, використовували [52] під час вирощування ячменю та вівса з нормою внесення 1,16%. Метою дослідження було вивчення впливу міскантусового біочару на кількість біомаси цих двох культур шляхом вимірювання вмісту білка та жиру, а також маси 1000 зерен. Результати показали, що міскантусовий біокарбон не вплинув на якість зерна ячменю та вівса. За даними Gabhane та ін. [53], збільшення врожайності рослин пов'язане з кількістю біомаси і може бути пов'язане зі збільшенням вмісту доступних N і P, ємності катіонного обміну ґрунту та рН при внесенні міскантусового біочару. Houben та ін. [26] визначили, що при внесенні 1% та 10% біочару вміст доступного ґрунтового P зростає до 17 мг-кг<sup>-1</sup> та 34 мг-кг<sup>-1</sup>, ємність катіонного обміну ґрунту - до 5,45 см<sup>3</sup> /кг<sup>-1</sup> та 6,16 см<sup>3</sup> /кг<sup>-1</sup>, а рН ґрунту - з 5,65 до 6,70, відповідно. Біомаса *Brassica napus L.* збільшилася приблизно у 18 разів при внесенні 10% біочару порівняно з дозою 1%. Міскантусове біовугілля, отримане при вищій температурі піролізу [54], вплинув на кількість біомаси *Zea mays L.* Міскантусове біовугілля, внесенне у ґрунт при вищій нормі внесення, має більший вплив на продуктивність біомаси різних культур [48].

#### **2.2.4. Вплив міскантусового біочару на мікробну біомасу та різноманітність ґрунтової фауни**

Більшість досліджень зосереджені на змінах якості ґрунту та впливі на присутність і активність мікроорганізмів при внесенні біомаси міскантусу в систему [23, 39, 55, 56, 57, 58, 59]. Низка досліджень також

зосереджена на впливі біомаси на ґрунтову фауну [58, 60, 61, 62]. У кількох дослідженнях розглядався вплив внесення міскантусового біочару на чисельність або мікробну біомасу [63, 64, 65, 66, 67, 68], нематод [66] та інших представників ґрунтової фауни [69]. Виходячи з представлених даних, у більшості досліджень було показано позитивний вплив міскантусового біочару на мікробні угруповання ґрунту, проте Vamminger та ін. [63] повідомили, що міскантусовий біочар не впливав на чисельність ґрунтових мікробів. На чисельність мікробів позитивно впливало внесення в ґрунт біочару з міскантусу, отриманого при нижчих температурах. При піролізі біомаси при температурі вище 600°C його позитивний вплив на мікробну спільноту ґрунту зменшувався, а іноді ефект був незначним. Більшість досліджень показують, що збільшення норми внесення позитивно впливає на чисельність мікроорганізмів, однак результати Mierzwa-Hersztek та ін. [68] суперечать цьому висновку: вони виявили, що нижча норма внесення (1%), порівняно з вищою (2%), сильніше впливала на чисельність мікробів. Внесення міскантусового біочару позитивно вплинуло на чисельність нематод і ґрунтової мезофауни (коллембол, кліщів та енхітреїд), що було більш помітно при вищій нормі внесення, тоді як на дощових черв'яків вплив міскантусового біочару був негативним, як повідомляють [69, 70, 71].

Коли біовугілля міскантусу виробляли при вищих температурах, його площа поверхні та структура пор збільшувалися [53, 73, 74]. Це призвело до колонізації ґрунтових бактерій і грибів, які корисні для поглинання поживних речовин із ґрунту. Збільшена структура пор біовугілля, отриманого при вищих температурах, дозволяє адсорбувати розчинену органічну речовину, що може покращити активність мікроорганізму [30]. Таким чином, виходячи з даних, мікробна чисельність і активність зростають з біовугіллям, виробленим при вищих температурах піролізу.

Однак ці параметри можуть зменшуватися, коли застосоване біовугілля виробляється при надто високих температурах піролізу ( $>800^{\circ}\text{C}$ ). За даними [69, 75, 76], деякі мезофауни в ґрунті, такі як *Collembola*, в основному живляться грибами, що колонізують пори біовугілля, тому біовугілля міскантуса із більш розвиненою структурою пор може колонізувати більше грибів, які споживаються цими мезофаунами, що збільшило їх популяцію. Weyers and Spokas [62] вказали, що підвищення рН ґрунту може бути основним фактором негативного впливу на активність і популяції дощових черв'яків у присутності біовугілля міскантуса [48].

### **2.2.5. Порівняння біочару міскантуса з біочаром, отриманим з іншої сировини**

Властивості біовугілля міскантуса порівнювали з характеристиками біовугілля, отриманого з іншої сировини, і досліджували вплив біовугілля міскантуса та іншого біовугілля на властивості ґрунту [29, 30, 32, 77, 78].

Було показано [35, 77, 79], що біовугілля, вироблене з пшениці, має вищий рН, вміст поживних речовин (N, P і K), а також вміст Cd, Ni та Zn порівняно з міскантусовим біовугіллям. Mierzwa-Hersztek та ін. [29] визначили, що біовугілля пшениці має більшу площу поверхні ( $0,67 \text{ м}^2\text{г}^{-1}$  порівняно з  $0,44 \text{ м}^2\text{г}^{-1}$ ), тоді як біовугілля з міскантуса має більший об'єм пор ( $0,0023 \text{ см}^3\text{г}^{-1}$  порівняно з  $0,0016 \text{ см}^3\text{г}^{-1}$ ). Біовугілля сосни та верби, вироблені при  $500^{\circ}\text{C}$  протягом 10 хв піролізу, мали більший вміст вуглецю (81,40 мас. % і 79,90 мас. % відповідно), ніж біовугілля міскантуса (76,3 мас. %), тоді як площа поверхні біовугілля міскантуса ( $1,95 \text{ м}^2\text{г}^{-1}$ ) була вищою порівняно з біовугіллям верби ( $1,55 \text{ м}^2\text{г}^{-1}$ ) [25].

Prendergast-Miller та ін. [78] виявили, що біовугілля міскантуса має вище значення рН, ніж біовугілля, отримане з верби (9,70 порівняно з 9,42), вищий вміст калію ( $18,33 \text{ гкг}^{-1}$  порівняно з  $5,18 \text{ гкг}^{-1}$ ), однак нижчий вміст загального вуглецю (81,94% проти 82,86%) і фосфору ( $0,82 \text{ гкг}^{-1}$  проти  $1,56$

гкг<sup>-1</sup>). За даними [30], площа поверхні біовугілля міскантусу, порівняно з біовугіллям з качанів кукурудзи, різко збільшилася зі збільшенням температури піролізу та залишилася відносно високою навіть після різкого зниження при високій температурі. Автори вказали, що зольність біовугілля міскантусу була вищою порівняно з біовугіллям кукурудзяного качана, тоді як рН біовугілля кукурудзяного качана був вищим, ніж у біовугілля міскантусу; однак із підвищенням температури піролізу (>500°C) рН біовугілля міскантусу почав перевищувати рН біовугілля кукурудзяного качана. Вміст вуглецю та атомне співвідношення біовугілля міскантусу, отриманого за допомогою піролізу (750°C) і ГТК (200°C і 250°C), мали вищі значення атомного співвідношення (О/С і Н/С), ніж у біовугілля, отриманого з кукурудзяного дигестату або деревної тріски тополі та верби, приготовленої за однаковими технологічними режимами [24, 78].

#### **2.2.6. Порівняння впливу на характеристики ґрунту**

Загалом застосування біовугілля як добрива покращує фізичні та хімічні характеристики ґрунту шляхом збільшення утримування поживних речовин і запобігання втратам вимивання, тим самим покращуючи ємність катіонного обміну ґрунту [80, 81] та здатність утримувати воду [82]. Застосування біовугілля змінює рН ґрунту [83, 84] та дихання ґрунту [85]. Застосування біовугілля збільшує поглинання вуглецю і, отже, зменшує кількість CO<sub>2</sub>, що потрапляє в атмосферу [86]. Польовий експеримент із слабокислим ґрунтом показав, що рН ґрунту, доповненого біовугіллям міскантусу, було вищим (6,50), ніж у ґрунті, доповненому біовугіллям пшениці (6,47) [29]. Проте в горщиківому експерименті із суглинистим ґрунтом із піщаною структурою, доповненим біовугіллям міскантусу, рН був нижчим (5,91) порівняно з ґрунтом, доповненим біовугіллям пшениці (6,31) [75]. За даними [81], біовугілля з міскантусу мало більший вміст фосфору, що виділяється, порівняно з біовугіллям верби. У польовому

експерименті [29], внесення біовугілля міскантусу в ґрунт призвело до вищої врожайності рослин, ніж у випадку додавання біовугілля із соломи пшениці. Біовугілля міскантусу, вироблене при 500°C, мало суттєвий вплив на врожайність кукурудзи порівняно з додаванням біовугілля сосни та верби, які також готували при 500°C [25]. Додавання біовугілля міскантусу в ґрунт порівняно з додаванням біовугілля верби призвело до більш високого виробництва біомаси ярого ячменю [79]. Додавання біовугілля міскантусу в нормі 1% призвело до вищого значення ґрунтових бактерій, порівняно з додаванням біовугілля пшениці, доданого в дозах 1% і 2%; однак додавання біовугілля міскантусу в дозі 2% призвело до найнижчого значення ґрунтових бактерій [75]. Vudai та ін. [71] не виявили різниці у впливі біовугілля кукурудзяного качана та міскантусу на мікробні спільноти ґрунту та показали, що мікробна активність зростає однаково зі збільшенням температури обох видів біовугілля. Однак біовугілля міскантусу має вищі характеристики пор, що свідчить про кращу якість середовища існування, мікроорганізми були більш поширені в ґрунтах, доповнених деревним біовугіллям, ніж у ґрунтах, доповнених біовугіллям міскантусу [87].

### **2.2.7. Біочар для покращення якості плодівих культур**

Біочар, дуже недорогий та «доступний» у садівництві, його можна виробляти з будь-якої лігноцелюлозної біомаси, включаючи хмиз, відходи від заготівлі деревини, залишки сільськогосподарських культур, такі як рисова і пшенична солома, бур'янисті чагарники і трави, а також гній тварин. На противагу акцентуванню уваги на необхідності проведення поглиблених польових досліджень для повного розуміння того, як біологічне деревне вугілля впливає на біологічну фіксацію N<sub>2</sub>, багато статей висвітлює потенціал використання деревного вугілля в садівництві для покращення внесення азоту, а також показує, що біовугілля з біомаси не

тільки призводить до виробництва відновлюваної енергії (синтетичного газу та біомасла), але й зменшує кількість вуглекислого газу в навколишньому середовищі [88].

Вплив біовугілля на плодові культури:

Манго: У засоленому середовищі біовугілля допомагає рослинам рости і розвивати свої фізіологічні та біохімічні характеристики. Врожайність і продуктивність сільськогосподарських культур зростала разом з висотою рослин і споживанням калію, коли до засоленого ґрунту додавали біочар. Крім того, це було зроблено для зміни азотного циклу, зменшення викидів закису азоту з ґрунту та збільшення поглинання вуглецю. Покращуючи фізичні та хімічні властивості шляхом фільтрації натрію і знижуючи його концентрацію в ґрунті, це також допомагає зменшити вплив сольового стресу. Завдяки високій здатності поглинати забруднюючі речовини, він може мати значний вплив на ґрунтові викиди CO<sub>2</sub> і покращувати якість забрудненого ґрунту. Хархаш та ін. (2022) провели експеримент з вивчення продуктивності манго під впливом внесення цеоліту та біовугілля в умовах засолення ґрунту. Результати показали, що внесення цеоліту або біочару мало сприятливий вплив на властивості ґрунту, що позначилося на товщині стовбура дерева, довжині та ширині пагонів, кількості суцвіть, врожайності в кг з дерева та якості плодів [89].

Цитрусові: Мікроорганізми є важливим аспектом ґрунтової екосистеми та основним каталізатором фізико-хімічних процесів, що відбуваються в ній. Унікальні фізичні та хімічні характеристики біомаси дозволяють їй пропонувати поживні речовини як джерело їжі та природне середовище існування для мікробів. Чжан та ін. (2022) дослідили, як внесення біовугілля покращило якість плодів, властивості ґрунту та мікроелементів на різних глибинах при вирощуванні цитрусових. Застосування біочару мало сприятливий вплив на показники цитрусових

(шкірка, їстівність, співвідношення розчинної твердої речовини до титрованої кислотності, розчинна тверда речовина) та фізико-хімічні властивості ґрунту (рН, органічна речовина, поживні елементи). Біочар значно збільшило багатство, рівномірність та різноманітність ґрунтових бактерій, зменшивши при цьому однорідність грибів з точки зору мікроорганізмів. Кількість корисних бактерій збільшувалася з кожною обробкою біовугіллям. Крім того, після внесення біочару значно збагатилися сапрофітні гриби, які можуть сприяти кругообігу поживних речовин [90].

Банан: Внесення біочару як доповнення до засоленого натрієвого ґрунту покращує вплив потенційних стресових факторів на продуктивність і врожайність рослин. В експерименті з вивчення впливу біочару на вегетативні параметри, вміст мінеральних речовин у листі, врожайність та якість плодів банана сорту “Grande Naine” у засоленому натрієвому ґрунті Ogiyala (2018) дійшов висновку, що вищі норми додавання біочару призводять до кращого росту, продуктивності та якості плодів. При внесенні 20 мг/га біочару з деревної тирси довжина і обхват псевдостебла, площа листової поверхні, а також біомаса значно збільшилися [91].

Папайя: Застосування біочару значно збільшило ріст пагонів і коренів, а також покращило хімічні характеристики ґрунту у рослин папайї. Швидко на початкових етапах зростання висоти рослин стало можливим завдяки використанню біочару та біопалива в поєднанні з гумусом. Незважаючи на підвищену ефективність накопичення та використання N, P, K, Ca і Mg рослинами, також було виявлено явний дефіцит N. Спільне застосування гумусу та біочару збільшує висоту рослин та вміст P у листі. Папайя краще росте і краще живиться, коли деревне вугілля і гумус вносяться окремо або разом, а родючість ґрунту зберігається [92].

Полуниця: Згідно з дослідженням Shang, у 2019 році було зроблено висновок, що хоча передбачалося, що застосування деревного біочару

підвищить врожайність і якість полуниці (середню вагу плодів, TSS (total soluble solids), TPC (Technical Panel on Soils) та антиоксидантну активність), єдине, що ця практика насправді зробила, - це збільшила середню вагу плодів. Більшу середню вагу плодів у культурах, оброблених біовугіллям, можна пояснити посиленою хімічною абсорбцією основних поживних речовин, таких як N, P і K, поверхнею біочару, що покращило поглинання поживних речовин корінням рослин під час розвитку та дозрівання плодів [93].

Яблуня: Яблуні мали більший діаметр стовбура та більшу кількість пагонів. Однак не було помітних змін у показниках продуктивності, таких як врожайність, вага плодів або вміст крохмалю в плодах [89].

У багатьох галузях біологічне деревне вугілля розвивається як дуже перспективний, екологічно чистий матеріал. Як наслідок, дуже важливо створити стандартні методи визначення характеристик біочару, які б враховували внесок усіх науковців, які використовували біочар [89].

### **2.3. Використання біочару в умовах *in vitro***

Культури рослинних тканин пропонують різні можливості для збільшення виробництва рослинної біомаси. Можна стимулювати регенерацію пагонів і коренів за допомогою додавання різних матеріалів до поживних середовищ. Зазвичай для індукції накопичення біомаси використовують цитокініни та ауксини. Ці регулятори росту є ефективними завдяки своїм фізіологічним ефектам [94-96]. Однак вони є дорогими і здорожують комерційне виробництво. Тому були випробувані альтернативні продукти для збільшення параметрів росту пагонів, вирощених в умовах *in vitro*. Відомо також, що біочар ефективно пригнічує хвороботворні мікроорганізми і є дуже довговічним завдяки стійкості до мікробної деградації, спричиненої його широким співвідношенням C до N [97-99]. Також було доведено, що біочар може збалансувати та зменшити концентрацію ендогенних фітогормонів у стресових умовах [100].

Як зазначалося вище, біочар, отриманий з різних органічних джерел, використовується в агрономічних дослідженнях. Однак було проведено лише кілька досліджень *in vitro* щодо використання біочару в культурах рослинних тканин. Завдяки високому вмісту органічних речовин, біочар може бути альтернативою регуляторам росту рослин і може бути використаним для отримання високоякісних пагонів в умовах *in vitro*.

Нещодавно було виявлено [92], що додавання БЧ може покращити середовище *in vitro* для пітаї (*Hylocereus undatus Haw*) та полуниці (*Fragaria x ananassa Duch*), її вплив порівнювали з пористими мембранними ковпачками, які сприяли лише збільшенню виходу сухої речовини коренів полуниці, вирощеної на поживних середовищах, з 0,1 та 2 г/л<sup>-1</sup> БЧ. Додавання 4 г/л<sup>-1</sup> сприяло росту та розвитку пітаї та коренів полуниці.

На видах *Daphne* було зроблено висновок [101], що додавання біовугілля в живильних середовищах зменшує накопичення сполук, пов'язаних зі стресом, головним чином осмолітів та абсцизової кислоти, а при додаванні БЧ не спостерігалось жодних симптомів фітотоксичності. Також фітогормональні зміни, індуковані АВ і БЧ, зокрема, знижують рівень ауксинів і підвищують концентрацію цитокінінів, що може стимулювати соматичний ембріогенез. [102]

Ченг та ін. [103] повідомили, що довжина коренів, кількість кореневих розгалужень і перехресних пагонів винограду (*Vitis rotundifolia*) були покращені шляхом додавання 20% біочару на основі соснової деревини до чистого піщаного ґрунту. Додавання біочару також сприяло збільшенню тонких коренів і загальної маси очерету (*Phragmites australis*) [104] та біомаси пагонів розсади томатів [105].

Також у інших наукових роботах демонструються багатообіцяючі ефекти біочару для індукції системної резистентності проти багатьох патогенів рослин [106, 107, 108]. Наприклад, внесення біочару в ґрунт викликало резистентність двох видів дерев (*Quercus rubra* та *Acer rubrum*)

проти уражень стебла, спричинених *Phytophthora spp.* [108]. Подібним чином доповнення поживного середовища біовугіллям зменшило сприйнятливість рослин перцю та томатів до деяких листкових грибкових патогенів, таких як *Leveillula taurica* та *Botrytis cinerea*, на додаток до зменшення нападу широких кліщів на рослинах перцю [106]. Крім того, застосування біочару в горщиківому матеріалі за різних умов призвело до підвищення стійкості рису проти нематоди кореневих вузлів *M. graminicola* [109].

У дослідженні на проростках *Lavandula officinalis L.*, вирощених *in vitro*, на свіжу масу пагонів і коренів, а також на суху масу пагонів додавання біопалива до живильного середовища статистично не впливало [106]. Біомаса пагонів і коренів рослин *L. officinalis*, вирощених у середовищі RDW, збільшилась у 3,74 рази порівняно з контролем за концентрації біовугілля 0,5 г/л. Результати також підтвердили, що вміст фенолів та флавоноїдів у проростках *L. officinalis*, вирощених *in vitro*, знижувався при застосуванні біовугілля. Подібно до цих результатів, [107] повідомили, що застосування біовугілля у концентраціях 2,5% та 5% знижувало антиоксидантну активність та підвищувало стійкість проростків квасолі до стресових умов. Хоча дві основні групи вторинних метаболітів (феноли та флавоноїди) були виявлені нижче в середовищах з додаванням біочару, антиоксидантна активність була вищою, ніж у контрольній групі. Більше того, побуріння експлантатів також було нижчим, коли застосовували біовугілля. Ці результати показали, що застосування біовугілля може допомогти рослинним тканинам боротися зі стресом в умовах *in vitro*. [107]

Раніше повідомлялося про стимулюючий ріст кореневої системи вплив біовугілля. Ді Лонардо та ін. [108] вивчали вплив біовугілля на клони *Populus alba L.* і повідомили, що суха біомаса коренів та кількість коренів/пагонів зростала при застосуванні 0,5 та 1,5 г/л біовугілля. Хаммер

та ін. [109] повідомили, що загальна біомаса рослин і біомаса коренів збільшувалася, коли рослини *Lactuca sativa* піддавалися впливу внесення біовугілля.

Miclea та ін [110] повідомили, що пагони *L. angustifolia* виростили вищими, коли активоване вугілля додавали до середовища для росту рослин.

Результати експерименту на двох клонах тополі білої (*Populus alba* L.), вирощених на поживних середовищах з різною кількістю БЧ, показали, що його додавання не зашкодило рослинам і не було суттєвих відмінностей у порівнянні з даними, отриманими за однакових концентрацій АВ. Показано, що додавання як БЧ, так і АВ збільшувало суху біомасу коренів та кількість коренів і пагонів, і ці ефекти не залежали від генотипу та концентрації доданих препаратів. Також було зафіксовано більший ріст пагонів, вирощених на субстраті, що містив БЧ, ніж пагонів, вирощених на середовищах без БЧ. Ці зміни не були спричинені внаслідок додавання БЧ, оскільки немає значної різниці між температурами різних живильних середовищ, а, ймовірно, пов'язані з адсорбцією молекул, таких як етилен. Доведено, що під час експерименту концентрація гормону в атмосфері була нижчою у флаконах з середовищем з БЧ, ніж у флаконах без БЧ через 14 і 21 день: менша кількість етилену в середовищі з БЧ може пояснити різницю в подовженні пагонів і більшу біомасу коренів, оскільки висока концентрація етилену може інгібувати органогенез [108].

#### **2.4. Використання активованого вугілля в умовах *in vitro***

Активоване вугілля (АВ) — це тверда речовина, багата вуглецем, яку отримують з біомаси або інших вуглецевмісних речовин, таких як вугілля або смоляний пек, за допомогою піролізу. У цьому процесі вуглецевий матеріал також «активується» за допомогою процесів, які значно збільшують площу поверхні матеріалу, що дозволяє йому захоплювати (або «адсорбувати») більшу кількість молекул. Ця висока адсорбційна здатність

дозволяє активованому вугіллю ефективно видаляти забруднення з води та повітря, тому активоване вугілля зазвичай призначене для проектів рекультивації та очищення.

АВ часто використовується в культурі тканин рослин для покращення росту та розвитку клітин [111]. Додавання АВ як до рідкого, так і до напівтвердого середовища є визнаною практикою, і його вплив на ріст і розвиток можна пояснити головним чином адсорбцією інгібіторних речовин у поживному середовищі [112, 113, 114, 115, 116], різке зниження фенольного окислення або накопичення коричневого ексудату [116, 117, 118], зміна рН середовища до оптимального рівня для морфогенезу [119] і встановлення затемненого середовища в середній і, отже, імітує ґрунтові умови [120]. Навіть незважаючи на те, що вплив АВ на поглинання регулятора росту рослин все ще неясний, деякі дослідники вважають, що АВ може поступово вивільняти певні адсорбовані продукти, такі як поживні речовини та регулятори росту рослин, на додаток до вивільнення речовин, природних для АВ, які сприяють росту рослин. [121, 122]. Хімічні речовини, що пригнічують ріст, такі як 5-гідроксиметилфурфурол, що утворюється під час автоклавовання з сахарози шляхом дегідратації, будуть видалені за допомогою АВ [111].

Найважливішим впливом додавання АВ до поживного середовища є різке зниження концентрації регуляторів росту рослин та інших органічних добавок. Це пов'язано з адсорбцією цих хімічних речовин АВ. Це змушує дослідників, які використовують АВ, не знати про фактичну кількість, доступну для рослинних тканин. Отримання цільових рівнів адекватного вільного екзогенного гормону може бути складним. Наприклад, за допомогою радіоактивних індикаторів встановлено, що в рідкому середовищі 99,5% доданої 100 мкМ 2,4-дихлорфеноксоцтової кислоти (2,4-Д) адсорбується 0,025 г/л АЦ протягом 5 днів приготування середовища [123]. Проте підвищені рівні 2,4-Д можна отримати, використовуючи

напівтверде середовище, знижуючи рівні АВ і додаючи більш високі концентрації 2,4-Д [123]. Подібні результати були отримані з 6-бензиламінопурином (6-БАП) [124]. Коли 11,3 мг/л 6-БАП було додано до гелеподібного середовища, менше 2% 6-БАП було доступно для рослинної тканини через 3 дні. Крім того, кількість 6-БАП, доданого до середовища, впливала на доступність 2,4-Д. Таким чином, АВ у середовищі може значно змінювати співвідношення компонентів середовища і згодом впливати на регенерацію рослин [125].

Повідомлялося про вплив АВ на формування культури та регенерацію рослин у кількох видів рослин, включаючи нижчі рослини. Застосування АВ у культурі рослинної тканини включає посилене встановлення культури протопластів [126], запобігання розвитку аномальних проростків [127], посилення соматичного ембріогенезу, формування пагонів, відновлення та укорінення рослин [128, 129, 130, 131, 132, 133]. Крім того, зниження здатності до регенерації довгострокових калюсів є поширеним явищем у різних системах, і АВ може відновити здатність до соматичного ембріогенезу та, як наслідок, регенерації рослин із довготривалих калюсів різних видів, субкультивованих на різних комбінаціях середовищ [134].

При додаванні в середовище, АВ надає певну перевагу полярним, а не аполярним органічним речовинам. Аналогічно, більша поглинальна здатність до ароматичних продуктів, таких як феноли та їхні оксиди, ауксини, включаючи індоліл-3-оцтову кислоту (ІОК), нафталінооцтову кислоту (НАК), індоліл-3-масляну кислоту (ІМК), цитокініни, включаючи 6-БАП-кінетин (Кн), зеатин тощо, та інші гормони, ніж до олеїнових ненасичених продуктів. Крім того, високополярні та легкокорозчинні у воді продукти, включаючи цукри, такі як глюкоза, сорбіт, маніт, інозит тощо, не будуть видалені з середовища або розчину [135].

Розчинені речовини, які знаходяться в контакт з АВ у розчині, будуть адсорбуватися до тих пір, поки не встановиться рівновага між

адсорбованою та десорбованою молекулою (ізотерма адсорбції). Кілька факторів, як-от щільність, чистота деревного вугілля та рН, впливають на адсорбційну здатність деревного вугілля. На додаток до цього неорганічні солі, такі як KCl, KI та NaCl, впливають на ізотерми адсорбції фенолу (з розбавленого водного розчину) активованим вугіллям [136]. Дослідження рентгенівської дифракції АВ підтвердили, що АВ є аморфним за своєю природою і має мікрокристалічну структуру, що, очевидно, впливає на його адсорбційну здатність [137].

Складність використання АВ в середовищі полягає в тому, що крім адсорбції небажаних речовин, він може адсорбувати необхідні гормони [112, 125, 126, 138], вітаміни [111, 115, 116], або іони металів, такі як  $Cu^{+2}$  і  $Zn^{+2}$  [138]. Останнім часом було опубліковано велику кількість досліджень про різні способи застосування АВ у культурі рослинних тканин. Більшість повідомлень підтверджують позитивну роль АВ в середовищі, що стимулює ріст і розвиток рослинних тканин. Однак, в деяких джерелах також повідомлялося про негативні результати, спричинені застосуванням АВ.

### 3. Матеріали та методи досліджень

#### 3.1. Склад і приготування поживного середовища

У дослідженні використовували середовища  $\frac{1}{2}$ MS (Mourashige & Skoog, 1962) з вітамінною сумішшю за Walkey, 5 г/л рослинного агару, відрегульованого до рН 5,8, 15 г/л сахарози, також активоване вугілля (АВ) та два варіанти біочару (БЧ) у різних концентраціях від 0 до 500 мг/л. Для приготування середовищ використовували воду, очищену зворотним осмосом. Склад регуляторів росту рослин та інших інгредієнтів детально описано в наступних етапах.

Вихідні розчини зберігали в темряві при 4-7°C протягом приблизно 2 місяців або відповідно до рекомендацій виробника. Всі інгредієнти середовищ були отримані від Duchefa Biochemie B.V. Приготовлені середовища стерилізували в автоклаві (модель ВК-75) при 121°C протягом 20 хвилин, а готові до використання середовища зберігали при 20±2°C не довше 2 тижнів після приготування.

#### 3.2. Процес культивування *in vitro*

На початковому етапі досліджень, вихідний рослинний матеріал *in vitro* перевіряли на наявність грибкового/дріжджового або бактеріального забруднення. Пагони переміщували на стерильний пергаментний аркуш, під ламінарною шафою з швидкістю потоку повітря 2 м/с, використовуючи один набір інструментів на експлантат. Калюс, деформовані, або пошкоджені тканини, пагони з ознаками некрозу, вітрифікації видаляли. Від розетки відокремлюють пагони довжиною не менше 1,5-2,5 см. Потім підготовлені пагони поміщали в середовище половинного складу MS і вітамінами Walkey з додаванням 2 мг/л індол-3-масляної кислоти [139, 140]. Після 5-ти тижнів культивування визначали морфометричні показники та вміст фенольних сполук в рослинному матеріалі.

### **3.3. Визначення морфометричних показників у пагонах черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6.**

Морфометричні показники визначали за допомогою лінійки та електричних ваг з точністю до 0,001 г. або 1 мг. на п'ятитижневих пагонах черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6.

### **3.4. Фотометричний метод кількісного визначення вмісту фенольних сполук у рослинному матеріалі.**

Визначення вмісту фенольних сполук в пагонах черешні на 5-му тижні здійснювали за методикою А. В. Глущенко :

Наважку ( $0,500 \pm 0,001$ ) г підготовленої проби чаю поміщають в склянку місткістю  $100 \text{ см}^3$  , додають  $25 \text{ см}^3$  дистильованої води (температура  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Перемішують до повного проходження екстракції проби і охолоджують до кімнатної температури. За допомогою піпетки поміщають  $1,0 \text{ см}^3$  екстракту розчинного чаю в мірну колбу місткістю  $100 \text{ см}^3$  . Доводять дистильованою водою до мітки і ретельно перемішують.

У мірну колбу на  $25 \text{ см}^3$  відбирають аліквоту з проби (розчини в діапазоні концентрацій  $0,0 - 12,0$  мкг галової к-ти/мл), додають  $2 \text{ см}^3$  реактиву Фоліна-Чекальтеу і через кілька хвилин  $10 \text{ см}^3$  7,5%-ного розчину  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  і доводять об'єм водою до мітки колби  $25 \text{ см}^3$  .

Оптичну густину приготованих розчинів вимірюють через 40 хвилин на спектрофотометрі, використовуючи світлофільтр із довжиною хвилі ( $\lambda = 746 \text{ нм}$ ) у кюветах із товщиною поглинаючого світлошару  $5,0 \text{ мм}$ . У якості розчину порівняння використовують:  $2 \text{ см}^3$  реактиву Фоліна-Чекальтеу і через кілька хвилин  $10 \text{ см}^3$  7,5%-ного розчину  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  і доводять об'єм водою до мітки колби  $25 \text{ см}^3$  . За даними оптичної густини розчину розраховують концентрацію вмісту фенолів, враховуючи розведення ( $K_p = V_k / V_a$ ):

$$C_x = \frac{A_x - 0,0068}{0,02635} \times K_p$$

де  $C_x$  , - концентрація фенолів;  $A_x$  - оптична густина розчинів;  $K_p$  – коефіцієнт розведення (1:100);

### **3.5. Статистичний аналіз**

Експеримент проводився за повністю рандомізованим методом (CRD) з факторним плануванням і включав 3 повторності на кожне дослідження. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel. Середні значення порівнювали за допомогою багатовимірною критерію Тьюкі [141] з рівнями значущості  $p \leq 0,05$  та  $p \leq 0,01$ .

#### 4. Результати досліджень та їх обговорення

Біовугілля (БЧ) — це багатий вуглецем продукт, отриманий у результаті процесу піролізу біомаси, і досі не було достовірно відомо про вплив БЧ на культури тканин як відповідну заміну активованого вугілля (АВ). Дослідження у видів *Daphne* показало, що перевірені біовугілля можна використовувати як добавки до стійкого середовища без негативного впливу на виробництво нових мікропагонів. На основі вивчених видів ми показали, що добавки з біовугілля можуть стимулювати формування рослин ( *D. jasminea* ), пом'якшувати реакцію на стрес ( *D. tangutica* ) і являти собою спосіб небажаного використання біомаси (інвазивні види *G. serium* ). Біочари не чинили стресової чи фітотоксичної дії на цей вид. Це відкриття може сприяти використанню біовугілля як компонента середовища при комерційному розмноженні рослин. [142, 143, 144].

Нижче наведені дані динаміки росту сорту черешні по завершенню п'яти тижнів культивування у різних концентраціях (0 мг/л, 50 мг/л, 100 мг/л, 150 мг/л, 200 мг/л, 250 мг/л, 300 мг/л, 350 мг/л, 400 мг/л, 450 мг/л, 500 мг/л.) біочару (1), біочару (2) та активованого вугілля а також відносного вмісту фенольних сполук у рослинному матеріалі.

Такі концентрації поживних середовищ біочару (1), біочару (2) та активованого вугілля були обрані для визначення найбільш прийнятної концентрації даних компонентів для штучного середовища при клональному розмноженні черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6.

#### 4.1. Вплив біочару (1) на морфометричні показники черешні (*Prunus cerasus x Prunus canescens*) сорту Gisela 6.

Для проведення цього досліджу пагони черешні проростали упродовж п'яти тижнів на поживних середовищах при концентраціях БЧ(1): 0 мг/л, 50 мг/л, 100 мг/л, 150 мг/л, 200 мг/л, 250 мг/л, 300 мг/л, 350 мг/л, 400 мг/л, 450 мг/л, 500 мг/л. (Таблиця 1).

**Таблиця 1.** Морфометричні показники черешні (*Prunus cerasus x Prunus canescens*) сорту Gisela 6.

Конц. БЧ(1) мг/л	Довжина пагона мм	Довжина кореня мм	Кількість коренів	Маса пагона мг	Маса кореня мг
0	3,08±0,08 Aa	4,73±0,21 Aa	6,61±0,33 Aa	0,26±0,02 aBb	0,42±0,05 Aa
50	2,81±0,02 aBb	4,18±0,08 bCc	5,43±0,1 aBb	0,22±0,002 Cc	0,38±0,005 aBb
100	2,93±0,03 Aa	4,83±0,1 Aa	5,76±0,05 Aa	0,23±0,004 Cc	0,32±0,004 Cc
150	2,94±0,05 Aa	4,89±0,18 Aa	5,9±0,17 Aa	0,26±0,005 aBb	0,36±0,013 Bb
200	2,52±0,03 bCc	4,47±0,16 aBb	5,63±0,09 aBb	0,29±0,002 Aa	0,32±0,008 Cc
250	2,44±0,03 Cc	4,1±0,16 Cc	5,18±0,036 bCc	0,23±0,004 Cc	0,44±0,008 Aa
300	2,35±0,06 cDd	4,25±0,2 Cc	5,11±0,14 Cc	0,23±0,007 Cc	0,38±0,022 aBb
350	2,06±0,02 Ee	3,76±0,08 Dd	4,55±0,13 cDd	0,23±0,004 Cc	0,39±0,009 aBb
400	2,45±0,04 Cc	3,9±0,22 cDd	3,88±0,107 dEe	0,29±0,003 Aa	0,34±0,016 Cc
450	2,31±0,02 Ee	3,28±0,07 Ee	3,93±0,12 dEe	0,21±0,005 cDd	0,33±0,007 Cc
500	2,15±0,02 Ee	3,39±0,11 Ee	3,63±0,07 Ee	0,19±0,004 Dd	0,27±0,011 cDd

\* — Представлені дані описують середнє значення ± SE, Різні великі літери в одному стовпчику свідчать про значну різницю при  $A = 0,05$ . Різні малі літери в стовпці вказують на значну різницю при  $a = 0,01$ .

Одержані результати, свідчать, що вміст БЧ(1) у поживному середовищі у всіх концентраціях практично на одному рівні ростових параметрів пагонів черешні (*Prunus cerasus x Prunus canescens*) сорту Gisela 6. Це може свідчити про те, що додавання БЧ(1) в поживне середовище сповільнює ріст і розвиток пагонів та коренів. Встановлено, що стимулюючий вплив АВ і БЧ у поживному середовищі на ріст пагонів і

подальше укорінення в основному залежить від фізіологічного стану експлантів [145, 146].

Поживне середовище без додавання регулятора росту нам слугує контролем для порівняння з середовищами які містять у собі БЧ(1) у різних концентраціях. Також судячи з даних морфометричні показники кращі у контрольному варіанті, аніж у варіантах поживного середовища з додаванням біочару у різних концентраціях.

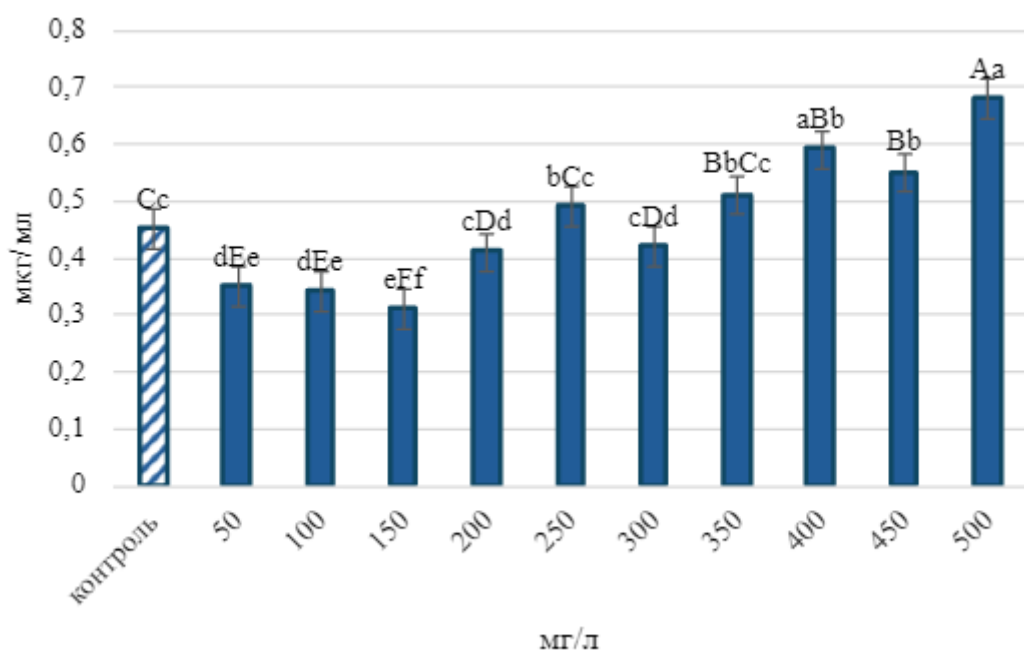
#### **4.2. Вплив біочару (1) на вміст фенольних сполук черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6.**

Активний синтез фенольних сполук – це захисна реакція рослини від різноманітного шкодочинного екзогенного впливу. Будь-який біотичний або абіотичний стрес (вплив патогенних грибів, бактерій, вірусів, температурні коливання, механічні пошкодження, яскраве світло, ультрафіолетове опромінення, дисбаланс мінеральних компонентів у ґрунті, засуха, засоленість, дія гербіцидів та солей тяжких металів) може призвести до інтенсифікації біосинтезу фенольних сполук у різних анатомічних частинах рослини [147]. Також, рівень фенолів змінюється залежно від агротехнічних елементів вирощування (сортів, схем садіння, мінерального живлення, субстратів, тощо). До прикладу, АВ не впливає на різке збільшення вмісту фенолів, яке спостерігається одразу після введення мікроживців *in vitro*. Це явище можна пояснити як реакцію на поранення внаслідок базального зрізу мікроживців [148], про що раніше повідомляли Fleuriet і Macheix [149]. На думку цих авторів, тканинна реакція на висічення або поранення може бути викликана змінами в метаболізмі, що призводить до швидкого окислення фенолів до хінонів і утворення мономерних одиниць, з яких складаються лігніни. Тому ми вирішили провести досліджування, як концентрація БЧ у поживному середовищі

впливає на вміст фенольних сполук в пагонах черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6, в яких вони проростали протягом певного часу, даного регулятора росту.

Для дослідів на визначення вмісту фенольних сполук, а також для порівняння отриманих результатів дослідження ми використали БЧ(1) у концентраціях: 0 мг/л, 50 мг/л, 100 мг/л, 150 мг/л, 200 мг/л, 250 мг/л, 300 мг/л, 350 мг/л, 400 мг/л, 450 мг/л, 500 мг/л. (Рисунок 3).

Найбільш яскравим прикладом, за яким ми могли помітити вплив БЧ(1), є збільшення вмісту фенольних сполук у пагонах черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6 при концентрації 500 мг/л. Це чітко простежується у порівнянні з іншими концентраціями. Як ми могли помітити подальше збільшення концентрації БЧ(1) після 50 мг/л поступово збільшував і вміст фенольних сполук у пагонах черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6. (рис.3)



**Рис 3:** Вміст фенольних сполук черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6 на 5-му тижні культивування з біочаром мг/л.

\* — Представлені дані описують середнє значення  $\pm$  SE, Різні великі літери в одному стовпчику свідчать про значну різницю при  $A = 0,05$ . Різні малі літери в стовпці вказують на значну різницю при  $a = 0,01$ .

#### 4.3. Вплив біочару (2) на морфометричні показники черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6.

Для проведення цього дослідження пагони черешні проростали упродовж п'яти тижнів на поживних середовищах при концентраціях БЧ(2): 0 мг/л, 50 мг/л, 100 мг/л, 150 мг/л, 200 мг/л, 250 мг/л, 300 мг/л, 350 мг/л, 400 мг/л, 450 мг/л, 500 мг/л. (Таблиця 2).

**Таблиця 2.** Морфометричні показники черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6.

Конц. БЧ (2) мг/л	Довжина пагона мм	Довжина кореня мм	Кількість коренів	Маса пагона мг	Маса кореня мг
0	3,08 $\pm$ 0,08 Aa	4,73 $\pm$ 0,21 aBb	6,61 $\pm$ 0,33 Aa	0,26 $\pm$ 0,02 Aa	0,42 $\pm$ 0,05
50	2,76 $\pm$ 0,08 Cc	4,25 $\pm$ 0,23 Cc	6,51 $\pm$ 0,27 Aa	0,21 $\pm$ 0,008	0,49 $\pm$ 0,02
100	2,8 $\pm$ 0,07 bCc	4,9 $\pm$ 0,22 Aa	6,79 $\pm$ 0,19 Aa	0,22 $\pm$ 0,009	0,42 $\pm$ 0,01
150	2,95 $\pm$ 0,08 Aa	4,51 $\pm$ 0,24 Bb	5,88 $\pm$ 0,24 Bb	0,26 $\pm$ 0,01	0,42 $\pm$ 0,01
200	2,71 $\pm$ 0,09 Dd	4,61 $\pm$ 0,35 Bb	5,81 $\pm$ 0,2 Bb	0,21 $\pm$ 0,007	0,36 $\pm$ 0,03
250	2,72 $\pm$ 0,1 Dd	4,32 $\pm$ 0,47 Cc	5,44 $\pm$ 0,15 bCc	0,21 $\pm$ 0,009	0,32 $\pm$ 0,03
300	2,75 $\pm$ 0,18 Cc	4,4 $\pm$ 0,39 bCc	5,79 $\pm$ 0,2 Bb	0,21 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,04
350	2,94 $\pm$ 0,06 aBb	4,79 $\pm$ 0,23 Aa	4,67 $\pm$ 0,26 Dd	0,21 $\pm$ 0,01	0,33 $\pm$ 0,02

400	2,71±0,08 Dd	4,88±0,35 Aa	4,97±0,19 cDd	0,22±0,008	0,34±0,02
450	2,92±0,07 aBb	4,73±0,19 aBb	4,47±0,36 Dd	0,29±0,007 Aa	0,27±0,02
500	2,76±0,08 Cc	4,17±0,25 cDd	4,77±0,29 Dd	0,21±0,009	0,29±0,04

\* — Представлені дані описують середнє значення  $\pm$  SE, Різні великі літери в одному стовпчику свідчать про значну різницю при  $A = 0,05$ . Різні малі літери в стовпці вказують на значну різницю при  $a = 0,01$ .

Одержані результати, свідчать, що вміст БЧ(2) у поживному середовищі у всіх концентраціях практично на одному рівні ростових параметрів пагонів черешні (*Prunus cerasus x Prunus canescens*) сорту Gisela 6. Це може свідчити про те, що додавання БЧ(2) в поживне середовище сповільнює ріст і розвиток пагонів та коренів.

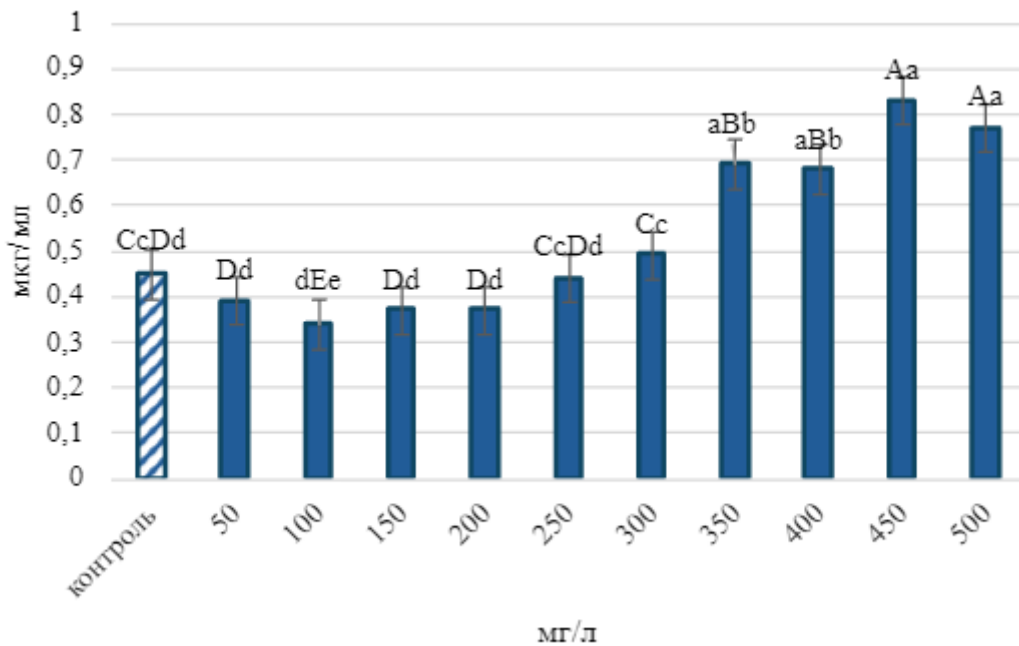
Поживне середовище без додавання регулятора росту нам слугує контролем для порівняння з середовищами які містять у собі БЧ(2) у різних концентраціях. Також судячи з даних морфометричні показники кращі у контрольному варіанті, аніж у варіантах поживного середовища з додаванням біочару у різних концентраціях. Схожий результати ми бачимо і у попередньому дослідженні з БЧ (1).

#### **4.4. Вплив біочару (2) на вміст фенольних сполук черешні (*Prunus cerasus x Prunus canescens*) сорту Gisela 6.**

Для досліду на визначення вмісту фенольних сполук, а також для порівняння отриманих результатів дослідження ми використали БЧ(2) у концентраціях: 0 мг/л, 50 мг/л, 100 мг/л, 150 мг/л, 200 мг/л, 250 мг/л, 300 мг/л, 350 мг/л, 400 мг/л, 450 мг/л, 500 мг/л. (Рисунок 4).

Результати, які ми отримали після проведення дослідження, показали, що вміст фенольних сполук з кожним додавання БЧ(2) у середовище, після концентрації 250 мг/л значно збільшився. Найбільш яскравим прикладом, за яким ми могли помітили вплив БЧ(2), є збільшення вмісту фенольних

сполук у пагонах черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6 при концентрації 450 мг/л. Це чітко простежується у порівнянні з іншими концентраціями. Як ми могли помітити додавання БЧ(2) у концентраціях від 50 мг/л до 250 мг/л вміст фенольних сполук нижчий у порівнянні з контролем, що є ознакою зменшення стресових реакцій у рослинному матеріалі. (рис.4)



**Рис.4:** Вміст фенольних сполук черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6 на 5-му тижні культивування з біочаром (2) мг/л.

\* — Представлені дані описують середнє значення  $\pm$  SE, Різні великі літери в одному стовпчику свідчать про значну різницю при  $A = 0,05$ . Різні малі літери в стовпці вказують на значну різницю при  $a = 0,01$ .

#### **4.5. Вплив активованого вугілля на морфометричні показники черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6.**

Для проведення цього дослідження пагони черешні проростали упродовж п'яти тижнів на поживних середовищах при концентраціях АВ: 0 мг/л, 50 мг/л, 100 мг/л, 150 мг/л, 200 мг/л, 250 мг/л, 300 мг/л, 350 мг/л, 400 мг/л, 450 мг/л, 500 мг/л. (Таблиця 3).

**Таблиця 3.** Морфометричні показники черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6.

Конц. АВ мг/л	Довжина пагона мм	Довжина кореня мм	Кількість коренів	Маса пагона мг	Маса кореня мг
0	3,18±0,08 Aa	4,51±0,21 Bb	6,82±0,33 Aa	0,31±0,02 Bb	0,51±0,05 Aa
50	2,89±0,07 Aa	4,78±0,14 AaB	4,97±0,12 Bb	0,27±0,01 bCc	0,44±0,06 aBb
100	2,78±0,07 Bb	4,51±0,18 Bb	5,1±0,17 Bb	0,27±0,012 bCc	0,39±0,01 Bb
150	2,80±0,08 Bb	4,37±0,16 Cc	4,67±0,13 Cc	0,26±0,02 Cc	0,39±0,01 Bb
200	2,64±0,08 cDd	4,33±0,25 Cc	4,36±0,17 eFf	0,25±0,02 Cc	0,35±0,02 Cc
250	2,69±0,13 Cc	4,32±0,32 Cc	4,96±0,14 Bb	0,24±0,01 Cc	0,33±0,01 cDd
300	2,45±0,07 Ee	3,98±0,28 Dd	4,59±0,09 cDd	0,33±0,01 aBb	0,38±0,01 Bb
350	2,49±0,12 Ee	4,42±0,21 bC	4,1±0,13 Ff	0,35±0,01 Aa	0,38±0,01 Bb
400	2,35±0,06 Ee	4,26±0,11	4,26±0,11 Ff	0,35±0,009 Aa	0,3±0,01 Dd
450	2,44±0,09 Ee	5,08±0,21 Aa	4,69±0,19 Cc	0,37±0,008 Aa	0,33±0,01 cDd
500	2,31±0,06 Ee	3,47±0,21 dEe	4,51±0,07 dEe	0,36±0,01 Aa	0,31±0,008 Dd

\* — Представлені дані описують середнє значення ± SE, Різні великі літери в одному стовпчику свідчать про значну різницю при A = 0,05. Різні малі літери в стовпці вказують на значну різницю при a = 0,01.

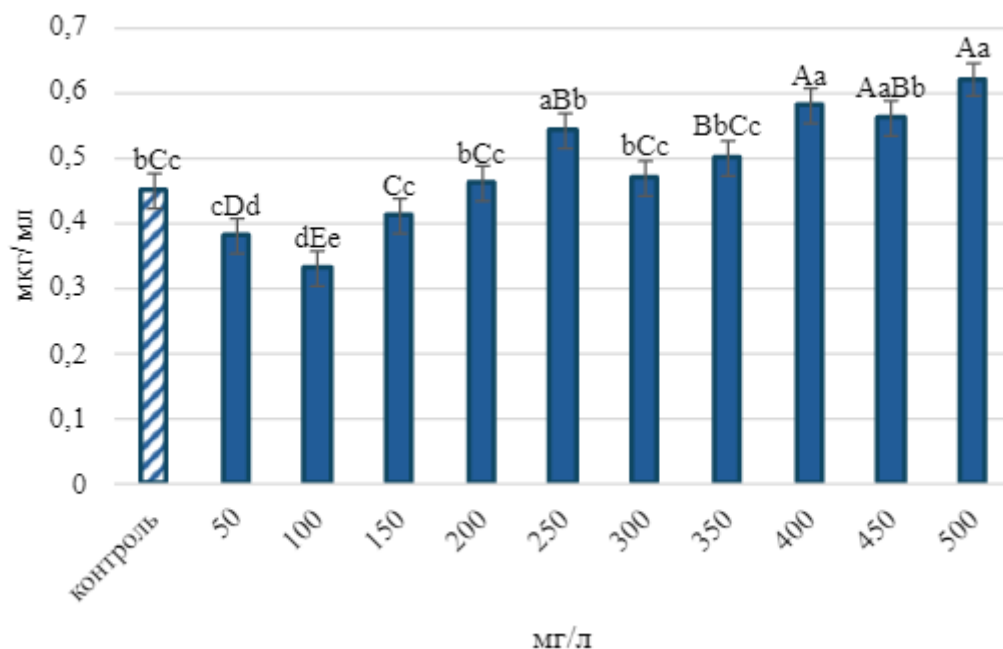
Одержані результати, свідчать, що вміст АВ у поживному середовищі у всіх його концентраціях показав нижчі ростові параметри пагонів черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6., у порівнянні з контролем.

**4.6. Вплив активованого вугілля на вміст фенольних сполук черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6.**

Для дослідження на визначення вмісту фенольних сполук, а також для порівняння отриманих результатів дослідження ми використали АВ у концентраціях: 0 мг/л, 50 мг/л, 100 мг/л, 150 мг/л, 200 мг/л, 250 мг/л, 300 мг/л, 350 мг/л, 400 мг/л, 450 мг/л, 500 мг/л. (Рисунок 5).

Результати, які ми отримали після проведення дослідження, показали, що при додаванні АВ відбувається сильне збільшення концентрації фенольних сполук.

Найбільш яскравим прикладом, за яким ми могли помітити вплив АВ, є стрімке збільшення вмісту фенольних сполук у пагонах черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6 при концентрації 500 мг/л. Це чітко простежується у порівнянні з іншими концентраціями. Як ми могли помітити поступове збільшення концентрації АВ після 50 мг/л збільшує вміст фенольних сполук у пагонах черешні. (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6. (рис.5)



**Рис.5:** Вміст фенольних сполук черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6 на 5-му тижні культивування з активованим вугіллям мг/л. \* — Представлені дані описують середнє значення  $\pm$  SE, Різні великі літери в одному стовпчику свідчать про значну різницю при  $A = 0,05$ . Різні малі літери в стовпці вказують на значну різницю при  $a = 0,01$ .

## 5. ВИСНОВКИ

Згідно з даних морфометричні показники були кращі у контрольному варіанті, аніж у варіантах поживного середовища з додаванням двох варіантів БЧ та АВ у різних концентраціях.

Результати з визначення вмісту фенольних сполук у пагонах черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6 нам показали, що при концентрації БЧ(1) 500 мг/л вміст фенольних сполук у рослинному матеріалі був значно вищий ніж у порівнянні з контролем чи іншими концентраціями. Це може свідчити про стресові реакції у рослини.

У БЧ(2) ми можемо поміти, що зі збільшенням концентрації біочару, збільшується й вміст фенольних сполук, найбільше вмісту фенольних сполук було зафіксовано при концентрації 450 мг/л.

У поживному середовищі із додаванням АВ, як і у середовища із додаванням БЧ, ми бачимо поступове збільшення вмісту фенольних сполук у пагонах черешні (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) сорту Gisela 6, найбільший вміст фенольних сполук був при концентрації 500 мг/л.

Однак все ще невідомі всі потенційні ефекти у зв'язку з новизною додавання біочару в поживні середовища. Також можуть існувати перешкоди, що обмежують використання біовугілля для рослинництва, в тому числі і непередбачувані зміни його властивостей.

## 6.Список літератури

1. Amery, F., Debode, J., Ommeslag, S., Visser, R., De Tender, C., & Vandecasteele, B. (2021). Biochar for Circular Horticulture: Feedstock Related Effects in Soilless Cultivation. *Agronomy*, 11(4), 629. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040629>
2. Ahloowalia, B.S., & Savangikar, V.A. (2004). Low cost options for energy and labour (IAEA-TECDOC--1384). International Atomic Energy Agency (IAEA)
3. Glaser B (2007) Prehistorically modified soils of central Amazonia: a model for sustainable agriculture in the twenty-first century.
4. *Philos Trans r Soc B Biol Sci* 362:187–196
5. Rodrigues AF, Novotny EH, Knicker H, de Oliveira RR (2019) Humic acid composition and soil fertility of soils near an ancient charcoal kiln: are they similar to Terra Preta de Índios soils? *J Soils Sediments* 19:1374–1381. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-2162-5>
6. Jindo K, Sánchez-Monedero MA, Mastrodonato G et al (2020) Role of biochar in promoting circular economy in the agriculture sector Part 2: a review of the biochar roles in growing media, composting and as soil amendment. *Chem Biol Technol Agric.* <https://doi.org/10.1186/s40538-020-00179-3>
7. Lal R. 2009. Soil Carbon Sequestration for Climate Change Mitigation and Food Security. *Geoderma*, 123(1): 1-22
8. Jayanta Layek J, Rumi Narzari R, Samarendra Hazarika S, Das A, Rangappa K, Devi S, Balusamy A, Saha S, Mandal S, Idapuganti RG, Babu S, Choudhury BU and Mishra VK. 2022. Prospects of Biochar for Sustainable Agriculture and Carbon Sequestration: An Overview for Eastern Himalayas. *Sustainability*, 14: 6684-6703.

9. Gęca, Marlena, Małgorzata Wiśniewska, i Piotr Nowicki. «Biochars and Activated Carbons as Adsorbents of Inorganic and Organic Compounds from Multicomponent Systems – A Review». *Advances in Colloid and Interface Science* 305 (July 2022): 102687. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102687>.
10. D. Angin, E. Altintig, T.E. Köse. “Influence of process parameters on the surface and chemical properties of activated carbon obtained from biochar by chemical activation”. *Bioresour Technol*, 148 (2013), pp. 542-549
11. Thomas T. D. (2008). The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology advances*, 26(6), 618–631. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.08.003>
12. Yam TY, Ernst R, Arditti J, Nair H, Weatherhead MA. Charcoal in orchid seed germination and tissue culture media: a review. *Lindleyana* 1990;5:256–65.
13. Zheng, W., Sharma, B.K., Rajagopalan, N., 2010. Using Biochar as a Soil Amendment for Sustainable Agriculture (No. 7276). *Sustainable Agriculture*.
14. Wilk, M., Magdziarz, A., 2017. Hydrothermal carbonization, torrefaction and slow pyrolysis of *Miscanthus giganteus*. *Energy* 140, 1292–1304. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.03.031>.
15. Zhang, Y., Cui, Y., Chen, P., Liu, S., Zhou, N., Ding, K., Fan, L., Peng, P., Min, M., Cheng, Y., Wang, Y., Wan, Y., Liu, Y., Li, B., Ruan, R., 2019. Chapter 14 - gasification technologies and their energy potentials. In: Taherzadeh, M.J., Bolton, K., Wong, J., Pandey, A. (Eds.), *Sustainable Resource Recovery and Zero Waste Approaches*. Elsevier, pp. 193–206. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64200-4.00014-1>.

16. Bengtsson, S., 2011. The CHRISGAS project. *Biomass Bioenergy*, **CHRISGAS** 35, S2–S7. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.08.012>.
17. Gabhane, J.W., Bhange, V.P., Patil, P.D., Bankar, S.T., Kumar, S., 2020. Recent trends in biochar production methods and its application as a soil health conditioner: a review. *SN Appl. Sci.* 2, 1307. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-3121-5>.
18. van der Stelt, M.J.C., Gerhauser, H., Kiel, J.H.A., Ptasiński, K.J., 2011. Biomass upgrading by torrefaction for the production of biofuels: a review. *Biomass Bioenergy* 35, 3748–3762. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.06.023>.
19. Major, J., 2010. Guidelines on Practical Aspects of Biochar Application to Field Soil in Various Soil Management Systems.
20. Mansi, Sakshi Bhardwaj, Narender K. Sankhyan and Dhanbir Singh. Biochar for Soil Carbon Sequestration and Crop Productivity .A Monthly Peer Reviewed Magazine for Agriculture and Allied Sciences. Volume-2, Issue-4, February, 2023, pp 185-189. E-ISSN: 2583-1755
21. Мандро, Ю. Н., & Давидова, І. В. (2020). Перспективи застосування деревного вугілля (біочару) як ефективного контрзаходу для радіоактивно забруднених і деградованих лісових екосистем. *Scientific Bulletin of UNFU*, 30(4), 92-98. <https://doi.org/10.36930/40300416>
22. Lal R. 2009. Soil Carbon Sequestration for Climate Change Mitigation and Food Security. *Geoderma*, 123(1): 1-22
23. Н. В. Суч, М. М. Ціба, В. М. Вікарчук, Л. А. Купчик, О. С. Федоришин, М. В. Кравченко // Вивчення впливу параметрів гідротермальної карбонізації кавового шламу на порувану структуру та сорбційні властивості гідровугілля//[Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології](#) : зб. наук. пр.. - 2022. - 20, вип. 1. - С. 207-219. - Бібліогр.: 14 назв. - укр.

24. Бунецький, В. А., Ганженко, О. М., & Роїк, М. В. (2021). Біочар – висококалорійне паливо та запорука великої врожайності!. *Біоенергетика*, (2), 8–12. <https://doi.org/10.47414/be.2.2018.229247>
25. Jayanta Layek J, Rumi Narzari R, Samarendra Hazarika S, Das A, Rangappa K, Devi S, Balusamy A, Saha S, Mandal S, Idapuganti RG, Babu S, Choudhury BU and Mishra VK. 2022. Prospects of Biochar for Sustainable Agriculture and Carbon Sequestration: An Overview for Eastern Himalayas. *Sustainability*, 14: 6684-6703.
26. Ткаченко, А., & Сагдєєва, О. (2024). АНАЛІЗ МЕТОДІВ ВИРОБНИЦТВА БІОЧАРУ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ В ЯКОСТІ ДОБАВКИ ДЛЯ КОМПОСТУВАННЯ. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Екологія. Людина. Суспільство»*, 169–173. <https://doi.org/10.20535/EHS2710-3315.2023.291565>
27. Kavitha, B., Reddy, P.V.L., Kim, B., Lee, S.S., Pandey, S.K., Kim, K.-H., 2018. Benefits and limitations of biochar amendment in agricultural soils: a review. *J. Environ. Manag.* 227, 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.08.082>.
28. Хоменчук В. О., Герц А. І., Конончук О. Б., Герц Н. В. Використання біочару і міскантусу гігантського (*Miscanthus giganteus*) для ремедіації ґрунту, забрудненого нафтопродуктами // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. 2022. Т. 82, № 4. С. 36-48. DOI : 10.25128/2078-2357.22.4.5
29. Kwapinski, W., Byrne, C.M., Kryachko, E., Wolfram, P., Adley, C., Leahy, J.J., Novotny, E.H., Hayes, M.H., 2010. Biochar from biomass and waste. *Waste Biomass Valorization* 1, 177–189. <https://doi.org/10.1007/s12649-010-9024-8>.
30. Luo, Y., Lin, Q., Durenkamp, M., Dungait, A., Brookes, P., 2017. Soil priming effects following substrates addition to biochar-treated

soils after 431 days of preincubation. *Biol. Fertil. Soils* 53, 315–326. <https://doi.org/10.1007/s00374-017-1180-6>.

31. Houben, D., Evrard, L., Sonnet, P., 2013a. Beneficial effects of biochar application to contaminated soils on the bioavailability of Cd, Pb and Zn and the biomass production of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Biomass Bioenergy* 57, 196–204. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.07.019>.

32. Houben, D., Sonnet, P., Cornelis, J.-T., 2014. Biochar from *Miscanthus*: a potential silicon fertilizer. *Plant Soil* 374, 871–882. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1885-8>.

33. Футрик В. В., Романів А. Р., Хоменчук А. В., Хоменчук В. О. Використання біовугілля та міскантусу гігантського для ремедіації ґрунту, забрудненого дизельним паливом // Шлях у науку: перші кроки : матеріали II Всеукраїнської конференції. (06 квітня 2023 р., м. Тернопіль). Тернопіль : ФОП Осадца Ю. В., 2023. С. 154-157

34. Mierzwa-Hersztek, M., Gondek, K., Klimkiewicz-Pawlas, A., Baran, A., 2017. Effect of wheat and *Miscanthus* straw biochars on soil enzymatic activity, ecotoxicity, and plant yield. *Int. Agrophys.* 31, 367–375. <https://doi.org/10.1515/intag-2016-0063>.

35. Budai, A., Wang, L., Gronli, M., Strand, L.T., Antal, M.J., Abiven, S., Dieguez-Alonso, A., Anca-Couce, A., Rasse, D.P., 2014. Surface properties and chemical composition of corncob and *miscanthus* biochars: effects of production temperature and method. *J. Agric. Food Chem.* 62, 3791–3799. <https://doi.org/10.1021/jf501139f>.

36. Ronsse, F., Hecke, S. van, Dickinson, D., Prins, W., 2013. Production and characterization of slow pyrolysis biochar: influence of feedstock type and pyrolysis conditions. *GCB Bioenergy* 5, 104–115. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12018>.

37. Oni, B.A., Oziegbe, O., Olawole, O.O., 2019. Significance of biochar application to the environment and economy. *Ann. Agric. Sci.* 64, 222–236. <https://doi.org/10.1016/j.Aoas.2019.12.006>.
38. Eibisch, N., Schroll, R., Fuß, R., Mikutta, R., Helfrich, M., Flessa, H., 2015. Pyrochars and hydrochars differently alter the sorption of the herbicide isoproturon in an agricultural soil. *Chemosphere* 119, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.Chemosphere.2014.05.059>.
39. Mench, M., Lepp, N., Bert, V., Schwitzgu'ebel, J.-P., Gawronski, S.W., Schroder, P., Vangronsveld, J., 2010. Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: outcomes, assessment and outlook from COST Action 859. *J. Soils Sediments* 10, 1039–1070. <https://doi.org/10.1007/s11368-010-0190-x>.
40. Tsao, D.T., 2003. Overview of phytotechnologies. In: Tsao, D.T. (Ed.), *Phytoremediation, Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1–50. [https://doi.org/10.1007/3-540-45991-X\\_1](https://doi.org/10.1007/3-540-45991-X_1).
41. Fellet, G., Marmioli, M., Marchiol, L., 2014. Elements uptake by metal accumulator species grown on mine tailings amended with three types of biochar. *Sci. Total Environ.* 468–469, 598–608. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.072>.
42. Pidlisnyuk, V.V., Shapoval, P., Zgorelec, Z., Stefanovska, T., Zhukov, A., 2020. Multiyear phytoremediation and dynamic of foliar metal(loid)s concentration during application of *Miscanthusxgiganteus* Greef et Deu to polluted soil from Bakar, Croatia. *Environ. Sci. Pollut. Control Ser.* 27, 31446–31457. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09344-5>
43. Janus, A., Waterlot, C., Heymans, S., Deboffe, C., Douay, F., Pelfrène, A., 2018. Do biochars influence the availability and human oral bioaccessibility of Cd, Pb, and Zn in a contaminated slightly alkaline soil?

Environ. Monit. Assess. 190, 218. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6592-8>.

44. Kharytonov, M., Pidlisnyuk, V., Stefanovska, T., Babenko, M., Martynova, N., Rula, I., 2019. The estimation of *Miscanthus × giganteus* adaptive potential for cultivation on the mining and post-mining lands in Ukraine. Environ. Sci. Pollut. Control Ser. 26, 2974–2986.

45. Paz-Ferreiro, J., Lu, H., Fu, S., M'endez, A., Gasco, ' G., 2014. Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: a review. Solid Earth 5, 65–75. <https://doi.org/10.5194/se-5-65-2014>.

46. Wiszniewska, A., Hanus-fajerska, E., Muszynska, ' E., Ciarkowska, K., 2016. Natural organic amendments for improved phytoremediation of polluted soils: a review of recent progress. Pedosphere 26, 1–12. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60017-0](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60017-0).

47. Mamirova, A., Pidlisnyuk, V., Amirbekov, A., Sevc ˇ u, A., Nurzhanova, A., 2020. Phytoremediation potential of *Miscanthus sinensis* And. in organochlorine pesticides contaminated soil amended by Tween 20 and Activated carbon. Environ. Sci. Pollut. Res. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11609-y>.

48. Beesley, L., Marmiroli, M., 2011. The immobilisation and retention of soluble arsenic, cadmium and zinc by biochar. Environ. Pollut. 159, 474–480. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.016>.

49. Puga, A.P., Abreu, C.A., Melo, L.C.A., Paz-Ferreiro, J., Beesley, L., 2015. Cadmium, lead, and zinc mobility and plant uptake in a mine soil amended with sugarcane straw biochar. Environ. Sci. Pollut. Res. 22, 17606–17614. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4977-6>.

50. Gomez-Eyles, J.L., Sizmur, T., Collins, C.D., Hodson, M.E., 2011. Effects of biochar and the earthworm *Eisenia fetida* on the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons and potentially toxic

elements. *Environ. Pollut.* 159, 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.09.037>

51. *Houben, D., Evrard, L., Sonnet, P., 2013b.* Mobility, bioavailability and pH-dependent leaching of cadmium, zinc and lead in a contaminated soil amended with biochar. *Chemosphere* 92, 1450–1457. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.055>.

52. *Wagner, A., Kaupenjohann, M., 2015.* Biochar addition enhanced growth of *Dactylis glomerata* L. and immobilized Zn and Cd but mobilized Cu and Pb on a former sewage field soil. *Eur. J. Soil Sci.* 66, 505–515. <https://doi.org/10.1111/ejss.12246>.

53. *Novak, J.M., Ippolito, J.A., Ducey, T.F., Watts, D.W., Spokas, K.A., Trippe, K.M., Sigua, G.C., Johnson, M.G., 2018.* Remediation of an acidic mine spoil: miscanthus biochar and lime amendment affects metal availability, plant growth, and soil enzyme activity. *Chemosphere* 205, 709–718. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.107>.

54. *Pidlisnyuk, V., Newton, R. A., & Mamirova, A. (2021).* Miscanthus biochar value chain - A review. *Journal of environmental management*, 290, 112611. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112611>

55. *Janus, A., Waterlot, C., Douay, F., Pelfrène, A., 2020.* Ex situ evaluation of the effects of biochars on environmental and toxicological availabilities of metals and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 1852–1869. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06764-w>.

56. *Kosolsaksakul, P., Oliver, I.W., Graham, M.C., 2018.* Evaluating cadmium bioavailability in contaminated rice paddy soils and assessing potential for contaminant immobilisation with biochar. *J. Environ. Manag.* 215, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.044>.

57. *Głęb, T., Gondek, K., Mierzwa-Hersztek, M., 2020.* Pyrolysis improves the effect of straw amendment on the productivity of perennial

ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Agronomy* 10, 1455.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy10101455>.

58. O'Toole, A., Moni, C., Weldon, S., Schols, A., Carnol, M., Bosman, B., Rasse, D.P., 2018. Miscanthus biochar had limited effects on soil physical properties, microbial biomass, and grain yield in a four-year field experiment in Norway. *Agriculture* 8, 171.  
<https://doi.org/10.3390/agriculture8110171>.

59. Gabhane, J.W., Bhange, V.P., Patil, P.D., Bankar, S.T., Kumar, S., 2020. Recent trends in biochar production methods and its application as a soil health conditioner: a review. *SN Appl. Sci.* 2, 1307.  
<https://doi.org/10.1007/s42452-020-3121-5>.

60. Kwapinski, W., Byrne, C.M., Kryachko, E., Wolfram, P., Adley, C., Leahy, J.J., Novotny, E.H., Hayes, M.H., 2010. Biochar from biomass and waste. *Waste Biomass Valorization* 1, 177–189.  
<https://doi.org/10.1007/s12649-010-9024-8>.

61. Andr'es, P., Rosell-Mel'e, A., Colomer-Ventura, F., Denef, K., Cotrufo, M.F., Riba, M., Alcaniz, J.M., 2019. Belowground biota responses to maize biochar addition to the soil of a Mediterranean vineyard. *Sci. Total Environ.* 660, 1522–1532. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.101>.

62. Gregory, S.J., Anderson, C.W.N., Camps Arbestain, M., McManus, M.T., 2014. Response of plant and soil microbes to biochar amendment of an arsenic-contaminated soil. *Agric. Ecosyst. Environ. Benefits Risks Biochar Appl. Soil* 191, 133–141.  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.03.035>.

63. Gregory, S.J., Anderson, C.W.N., Camps-Arbestain, M., Biggs, P.J., Ganley, A.R.D., O'Sullivan, J.M., McManus, M.T., 2015. Biochar in Co-contaminated soil manipulates arsenic solubility and microbiological

community structure, and promotes organochlorine degradation. PloS One 10, e0125393. [https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0125393](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125393).

64. McCormack, S.A., Ostle, N., Bardgett, R.D., Hopkins, D.W., Vanbergen, A.J., 2013. Biochar in bioenergy cropping systems: impacts on soil faunal communities and linked ecosystem processes. GCB Bioenergy 5, 81–95. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12046>.

65. Shaaban, M., Van Zwieten, L., Bashir, S., Younas, A., Núñez-Delgado, A., Chhajro, M.A., Kubar, K.A., Ali, U., Rana, M.S., Mehmood, M.A., Hu, R., 2018. A concise review of biochar application to agricultural soils to improve soil conditions and fight pollution. J. Environ. Manag. 228, 429–440. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.040>.

66. Domene, X., 2016. Chapter 11 - a critical analysis of meso- and macrofauna effects following biochar supplementation. In: Ralebitso-Senior, T.K., Orr, H., C (Eds.), Biochar Application. Elsevier, pp. 268–292. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803433-0.00011-4>.

67. Pathy, A., Ray, J., Paramasivan, B., 2020. Biochar amendments and its impact on soil biota for sustainable agriculture. Biochar 2, 287–305. <https://doi.org/10.1007/s42773-020-00063-1>.

68. Weyers, S.L., Spokas, K.A., 2011. Impact of biochar on earthworm populations: a review. Appl. Environ. Soil Sci. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2011/541592>, 2011.

69. Bamminger, C., Poll, C., Sixt, C., Hög, P., Wüst, D., Kandeler, E., Marhan, S., 2016. Short-term response of soil microorganisms to biochar addition in a temperate agroecosystem under soil warming. Agric. Ecosyst. Environ. 233, 308–317. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.09.016>.

70. Budai, A., Rasse, D.P., Lagomarsino, A., Lerch, T.Z., Paruch, L., 2016. Biochar persistence, priming and microbial responses to pyrolysis temperature series. Biol. Fertil. Soils 52, 749–761. <https://doi.org/10.1007/s00374-016-1116-6>.

71. Fox, A., Gahan, J., Ikoyi, I., Kwapinski, W., O'Sullivan, O., Cotter, P.D., Schmalenberger, A., 2016. Miscanthus biochar promotes growth of spring barley and shifts bacterial community structures including phosphorus and sulfur mobilizing bacteria. *Pedobiologia* 59, 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2016.07.003>.
72. Fox, A., Kwapinski, W., Griffiths, B.S., Schmalenberger, A., 2014. The role of sulfur- and phosphorus-mobilizing bacteria in biochar-induced growth promotion of *Lolium perenne*. *FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol. Ecol.* 90, 78–91. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12374>.
73. Luo, Y., Durenkamp, M., De Nobili, M., Lin, Q., Devonshire, B.J., Brookes, P.C., 2013. Microbial biomass growth, following incorporation of biochars produced at 350°C or 700°C, in a silty-clay loam soil of high and low pH. *Soil Biol. Biochem.* 57, 513–523. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.10.033>.
74. Mierzwa-Hersztek, M., Gondek, K., Klimkiewicz-Pawlas, A., Chmiel, M.J., Krzysztof, D., Hutsol, T., 2019. Assessment of soil quality after biochar application based on enzymatic activity and microbial composition. *Int. Agrophys.* 33, 331–336. <https://doi.org/10.31545/intagr/110807>.
75. Briones, M.J.I., Panzacchi, P., Davies, C.A., Ineson, P., 2020. Contrasting responses of macro- and meso-fauna to biochar additions in a bioenergy cropping system. *Soil Biol. Biochem.* 145, 107803. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107803>.
76. Głab, T., Sadowska, U., Zabinski, A., 2015. Application of image analysis for grass tillering determination. *Environ. Monit. Assess.* 187, 674. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4899-2>.
77. Gronwald, M., Don, A., Tiemeyer, B., Helfrich, M., 2015. Effects of fresh and aged chars from pyrolysis and hydrothermal carbonization on nutrient sorption in agricultural soils. *Soil* 1, 475–489. <https://doi.org/10.5194/soil-1-475-2015>.

78. Prendergast-Miller, M.T., Duvall, M., Sohi, S.P., 2014. Biochar-root interactions are mediated by biochar nutrient content and impacts on soil nutrient availability. *Eur. J. Soil Sci.* 65, 173–185. <https://doi.org/10.1111/ejss.12079>.
79. Lehmann, J., Pereira da Silva, J., Steiner, C., Nehls, T., Zech, W., Glaser, B., 2003. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. *Plant Soil* 249, 343–357. <https://doi.org/10.1023/a:1022833116184>.
80. Major, J. (2010). Guidelines on practical aspects of biochar application to field soil in various soil management systems. *International Biochar Initiative*, 8(1), 5-7.
81. Glaser, B., Lehmann, J., Zech, W., 2002. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal – a review. *Biol. Fertil. Soils* 35, 219–230. <https://doi.org/10.1007/s00374-002-0466-4>.
82. Hossain, M.K., Strezov, V., Yin Chan, K., Nelson, P.F., 2010. Agronomic properties of wastewater sludge biochar and bioavailability of metals in production of cherry tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Chemosphere* 78, 1167–1171. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.009>.
83. Uchimiya, M., Lima, I.M., Thomas Klasson, K., Chang, S., Wartelle, L.H., Rodgers, J.E., 2010. Immobilization of heavy metal ions (CuII, CdII, NiII, and PbII) by broiler litterderived biochars in water and soil. *J. Agric. Food Chem.* 58, 5538–5544. <https://doi.org/10.1021/jf9044217>.
84. Smith, J.L., Collins, H.P., Bailey, V.L., 2010. The effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biol. Biochem.* 42, 2345–2347. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.09.013>.

85. Spokas, K.A., Koskinen, W.C., Baker, J.M., Reicosky, D.C., 2009. Impacts of woodchip biochar additions on greenhouse gas production and sorption/degradation of two herbicides in a Minnesota soil. *Chemosphere* 77, 574–581. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.06.053>.
86. Schnee, L.S., Knauth, S., Hapca, S., Otten, W., Eickhorst, T., 2016. Analysis of physical pore space characteristics of two pyrolytic biochars and potential as microhabitat. *Plant Soil* 408, 357–368. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2935-9>.
87. Pankaj Kumar Ray and Pallavi Bharti. Biochar: A Quality Enhancer for Fruit Crops. A Monthly Peer Reviewed Magazine for Agriculture and Allied Sciences. Volume-2, Issue-4, February, 2023, pp 77-79, E-ISSN: 2583-1755
88. Harhash, M.M., Ahamed, M.M.M. & Mosa, W.F.A. Mango performance as affected by the soil application of zeolite and biochar under water salinity stresses. *Environ Sci Pollut Res* 29, 87144–87156 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21503-4>
89. Zhang, M., Riaz, M., Xia, H., Li, Y., Wang, X., & Jiang, C. (2022). Four-year biochar study: Positive response of acidic soil microenvironment and citrus growth to biochar under potassium deficiency conditions. *Science of The Total Environment*, 813, 152515.
90. Abo-Ogiala, A. M. M. E. (2018). Impact of Biochar on vegetative parameters, leaf mineral content, yield and fruit quality of grande naine banana in saline-sodic soil. *Egyptian Journal of Horticulture*, 45(2), 315-322.
91. Laura, S. S., Érika, M. G. L., Claudinéia, F. N., Demerson, A. S., Eulina, F. D., Matheus, M. R., Leidivan, A. F., & Luiz, A. F. (2023). Biochar as an alternative to improve the in vitro environment for Pitaya (*Hylocereus undatus* Haw) and strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch)

growing. *African Journal of Agricultural Research*, 19(3), 226–234.  
<https://doi.org/10.5897/AJAR2022.16255>

92. Shang, X. (2019). *Effect of wood-based biochar on soil quality, small fruit yield and quality in southern Quebec, Canada*. McGill University (Canada).

93. Mathur J, Koncz C. Callus Culture and Regeneration. In: Martínez-Zapater JM, Salinas J, editors. *Methods in Molecular Biology™: Arabidopsis Protocols*, New Jersey: Humana Press, 1998. 82, pp. 31-35p.

94. Chawla HS. *Introduction to Plant Biotechnology*. Second edition, New Hampshire, United States of America, USA: Science Publishers Inc., 2002.

95. Nartop P. Engineering of Biomass Accumulation and Secondary Metabolite Production in Plant Cell and Tissue Cultures. In. Ahmad P, Ahanger MA, Singh VP, editors. *Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress*, Chapter 9, Elsevier, 2018, pp. 169-194, ISBN: 978-0-12-812689-9.

96. Rawat J, Saxena J, Sanwal P. *Biochar: A Sustainable Approach for Improving Plant Growth and Soil Properties, Biochar - An Imperative Amendment for Soil and the Environment*, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.82151>.

97. Bonanomi G, Ippolito F, Scala FA. Black Future For Plant Pathology? Biochar As A New Soil Amendment For Controlling Plant Diseases. *J Plant Pathol*. 2015; 97(2): 223-234.

98. Jha P, Biswas AK, Rao AS. Biochar in agriculture – Prospects and related implications. *Curr Sci* 2010; 99(9): 1218-1225.

99. Farhangi-Abriz S, Torabian S. Biochar Increased Plant Growth-Promoting Hormones and Helped to Alleviate Salt Stress in Common Bean Seedlings. *J Plant Growth Regul* 2015; 37: 591–601.

100. *Lehmann J, Gaunt J, Rondon M.* Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems – A review. *Mitig Adapt Strateg Glob Chang* 2006; 11: 403-427. [8] *Chang Y, Rossi L, Zotarelli L, Gao B, Shahid MA, Sarkhosh A.* Biochar improves soil physical characteristics and strengthens root architecture in Muscadine grape (*Vitis rotundifolia* L.). *Chem Biol Technol Agric* 2021; 8:7.

101. *Wishnevaska, A., Dzyurka, K., Dzyurka, M. and others.* Biochars as additives to the nutrient medium affect the organogenic potential of plant explants through changes in the content of endogenous phytohormones and carbohydrates in *Daphne* species. *Plant Cell Organ Cult* 152, 45–66 (2023) <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02387-1>

102. *Chang Y, Rossi L, Zotarelli L, Gao B, Shahid MA, Sarkhosh A.* Biochar improves soil physical characteristics and strengthens root architecture in Muscadine grape (*Vitis rotundifolia* L.). *Chem Biol Technol Agric* 2021; 8:7.

103. *Liang JF, Li QW, Gao JQ, Feng JG, Zhang XY, Wu YQ, Yu FH.* Biochar rhizosphere addition promoted *Phragmites australis* growth and changed soil properties in the Yellow River Delta. *Sci Total Environ* 2021; 761: 143291.

104. *Guo LL, Borno ML, Niu WQ, Liu FL.* Biochar amendment improves shoot biomass of tomato seedlings and sustains water relations and leaf gas exchange rates under different irrigation and nitrogen regimes. *Agric Water Manag* 2021; 106580.

105. *Elad, Y., David, D. R., Harel, Y. M., Borenshtein, M., Kalifa, H. B., Silber, A., & Graber, E. R.* (2010). Induction of systemic resistance in plants by biochar, a soil-applied carbon sequestering agent. *Phytopathology*, 100(9), 913–921. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-9-0913>

106. Vaccari FP, Baronti S, Lugato E, Genesio L, Castaldi S, Fornasier F, Miglietta F (2011) Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. *Eur J Agron* 34(4):231–238
107. Zwart DC, Kim S (2012) Biochar amendment increases resistance to stem lesions caused by *Phytophthora* spp. in tree seedlings. *HortScience* 47(12):1736–1740
108. Huang WK, Ji HL, Gheysen G, Debode J, Kyndt T (2015) Biochar-amended potting medium reduces the susceptibility of rice to root-knot nematode infections. *BMC Plant Biol* 1:1–5
109. Nartop, P., Ozdil Şener, S., & Gök, S. B. (2024). BIOCHAR-SUPPORTED IN VITRO CULTURES OF *Lavandula officinalis* L. *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi - C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji*, 13(2), 133–142. <https://doi.org/10.18036/estubtdc.1404374>
110. Kul R, Ekinci M, Turan M, Yıldırım E. Impact of biochar on growth, physiology and antioxidant activity of common bean subjected to salinity stress. *Glob J Bot Sci* 2021; 9: 8-13
111. Di Lonardo, S., Vaccari, F.P., Baronti, S. et al. Biochar successfully replaces activated charcoal for in vitro culture of two white poplar clones reducing ethylene concentration. *Plant Growth Regul* 69, 43–50 (2013). <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9745-8>
112. Hammer, Edith & Forstreuter, Manfred & Rillig, Matthias & Kohler, Josef. (2015). Biochar increases arbuscular mycorrhizal plant growth enhancement and ameliorates salinity stress. *Applied Soil Ecology*. 96. 114-121. 10.1016/j.apsoil.2015.07.014.
113. Miclea I, Suhani A, Zahan M, Bunea A. Effect of Jasmonic Acid and Salicylic Acid on Growth and Biochemical Composition of In-Vitro-Propagated *Lavandula angustifolia* Mill *Agron* 2020; 10: 1722.

114. *Pan MJ, Van Staden J.* The use of charcoal in in vitro culture—a review. *Plant Growth Regul* 1998;26:155–63.
115. *Fridborg G, Pedersen M, Landstrom LE, Eriksson T.* The effect of activated charcoal on tissue cultures: adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis. *Physiol Plant* 1978;43:104–6.
116. *Horner M, McComb JA, McComb AJ, Street HE.* Ethylene production and plantlet formation by *Nicotiana* anthers cultured in the presence and absence of charcoal. *J Exp Bot* 1977;28:1366–72.
117. *Theander O, Nelson DA.* Aqueous, high temperature transformation of carbohydrates relative to utilization of biomass. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 1988;46:273–326.
118. *Weatherhead MA, Burdon J, Henshaw GG.* Some effects of activated charcoal as an additive to plant tissue culture media. *Z Pflanzenphysiol* 1978;89:141–7.
119. *Weatherhead MA, Burdon J, Henshaw GG.* Effects of activated charcoal as an additive plant tissue culture media. *Z Pflanzenphysiol* 1979;94:399–405.
120. *Carlberg I, Glimelius K, Eriksson T.* Improved culture ability of potato protoplasts by use of activated charcoal. *Plant Cell Rep* 1983;2:223–5
121. *Liu MSC.* Plant regeneration in cell suspension culture of sugarcane as affected by activated charcoal, medium composition and tissue culture. *Taiwan Sugar*; 1993. p. 18–25. May–June.
122. *Teixeria JB, Sondahl MR, Kirby EG.* Somatic embryogenesis from immature inflorescences of oil palm. *Plant Cell Rep* 1994;13:247–50.
123. *Owen HR, Wengerd D, Miller AR.* Culture medium pH is influenced by basal medium, carbohydrate source, gelling agent, activated charcoal, and medium storage method. *Plant Cell Rep* 1991;10:583–6.

124. *Dumas E, Monteuuis O.* *In vitro* rooting of micropropagated shoots from juvenile and mature *Pinus pinaster* explants—influence of activated charcoal. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 1995;40:231–5.
125. *Johansson L, Eriksson T.* Induced embryo formation in anther culture of several *Anemone* species. *Physiol Plant* 1977;40:172–4
126. *Johansson LB, Calleberg E, Gedin A.* Correlations between activated charcoal, Fe-EDTA and other organic media ingredients in cultured anthers of *Anemone canadensis*. *Physiol Plant* 1990;80:243–9.
127. *Ebert A, Taylor HF.* Assessment of the changes of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations in plant tissue culture media in the presence of activated charcoal. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 1990;20:165–72
128. *Ebert A, Taylor F, Blake J.* Changes of 6-benzylaminopurine and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations in plant tissue culture media in the presence of activated charcoal. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 1993;33:157–63
129. *Druart P, De Wuif O.* Activated charcoal catalyses sucrose hydrolysis during autoclaving. *Plant Cell Tissue Org Cult* 1993;32:97–9.
130. *Kunitake H, Nakashima T, Mori K, Tanaka M, Mii M.* Plant regeneration from mesophyll protoplasts of *lisianthus* (*Eustoma grandiflorum*) by adding activated charcoal into protoplast culture medium. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 1995;43:59–65.
131. *Ziv M, Gadası G.* Enhanced embryogenesis and plant regeneration from cucumber (*Cucumis sativus* L.) callus by activated charcoal in solid/liquid double-layer cultures. *Plant Sci* 1986;47:115–22.
132. *Buter B, Pescitelli SM, Berger K, Schmid JE, Stamp P.* Autoclaved and filter sterilized liquid media in maize anther culture: significance of activated charcoal. *Plant Cell Rep* 1993;13:79–82.
133. *Fuchs A.* The effects of activated charcoal in culture medium on the frequency and intensity of the callogenesis and organogenesis of *Zea*

*mays L* and *Brassica napus L. in vitro*. Beitr Trop Landwirtsch Bet Med 1991;29H:57–62.

134. Mathews H, Schopke C, Carcamo R, Chavarriaga P, Fauquet C, Beachy RN. Improvement of somatic embryogenesis and plant recovery in cassava. Plant Cell Rep 1993;12: 328–33.

135. Patel KR, Thorpe TA. *In vitro* regeneration of plantlets from embryonic and seedling explants of Engelmaun spruce (*Picea engelmannii* Parry). Tree Physiol 1986;1:289–301.

136. Sinha RK, Mallick R. Plantlets from somatic callus tissue of the wood legume *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W.F.wight. Plant Cell Rep 1991;13:247–50.

137. Zaghmout OMF, Torello WA. Enhanced regeneration in long-term callus culture of red fescue by pretreatment with activated charcoal. Hort Sci 1988;23:615–6.

138. Yam TY, Ernst R, Arditti J, Nair H, Weatherhead MA. Charcoal in orchid seed germination and tissue culture media: a review. Lindleyana 1990;5:256–65.

139. Halhouli KA, Darwish NA, Aldhoon NM. Effects of pH and inorganic salts on the adsorption of phenol from aqueous systems on activated decoloring charcoal. Separ Sci Technol 1995;30:3313–24.

140. Qadeer, Riaz & Hanif, J. & Saleem, M.A. & Afzal, Muhammad Moin. (1994). Characterization of activated charcoal. J Chem Soc Paki. 16. 229-235.

141. Nanda, A., Mohapatra, B. B., Mahapatra, A. P. K., Mahapatra, A. P. K., & Mahapatra, A. P. K. (2021). Multiple comparison test by Tukey's honestly significant difference (HSD): Do the confident level control type I error. *International Journal of Statistics and Applied Mathematics*, 6(1), 59–65.

142. *Nissen SJ, Sutter EG.* Stability of IAA and IBA in nutrient medium to several tissue culture procedures. *Hort Science* 1990;25:800–2.
143. *Van Winkle S, Johnson S, Pullman GS.* The impact of gelrite and activated carbon on the elemental composition of plant tissue culture media. *Plant Cell Rep* 2003;21: 1175–82.
144. *Murashige T., Skoog F.* 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15(3): 473-497.
145. *Walkey D.* 1972. Production of apple plantlets from axillary bud meristems. *Can. J. Plant Sci.* 52:1085-1087.
146. *Zhang Z, Solaiman ZM, Meney K та ін.* (2013) Біоугілля знерухомлюють кадмій у ґрунті, але не покращують ріст нових водно-болотних видів *Juncus subsecundus* у ґрунті, забрудненому кадмієм. *J Soils Sediments* 13:140–151. <https://doi.org/10.1007/s11368-012-0571-4>
147. *Polzella A, De Zio E, Arena S та інші* (2019) До розуміння механізмів регулювання реакції рослин на застосування біоугілля. *Plant Biosyst* 153:163-172. <https://doi.org/10.1080/11263504.2018.1527794>
148. *M Martos S, Mattana S, Ribas A et al* (2020) Biochar application as a win-win strategy to mitigate soil nitrate pollution without compromising crop yields: a case study in a Mediterranean calcareous soil. *J Soils Sediments* 20:220–233. <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02400-9>
149. *Welandar, M. and Huntieser, I.,* 1981. The rooting ability of shoots raised in vitro from the apple rootstock As in juvenile and in adult growth phase. *Physiol. Plant.*, 53: 301-306.;