МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.07. – МР. 1998 «С».. 2023.11.1. 16 ПЗ

ОСТАВНЕНКО КАТЕРИНА ВОЛОДИМИРІВНА

2024

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 631.4:631.8:633.9

ПОГОДЖЕНО	**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ**
Декан факультету захисту рослин, біотехнологій та екології	**Завідувач кафедри екобіотехнології та біорізноманіття**
_____ Коломієць Ю.В.	**_____ Кваско О.Ю.**
«___» _____ 2024 р.	«____» _____ 2024 р.

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

на тему «Регулятори росту Стимпо та Регоплант у підвищенні активності ризосферних мікроорганізмів міскантусу (*Miscanthus x giganteus*)»

Спеціальність 162 «Біотехнологія та біоінженерія»
(код і назва)

Освітня програма «Біотехнологія та біоінженерія»
(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Керівник бакалаврської роботи

д. с.-г. наук., доцент		**Бородай В. В.**
(науковий ступінь та вчене звання)		(підпис)
	(ПІБ)	

Виконав		**Оставненко К. В.**
	(підпис)	(ПІБ студента)

КИЇВ-2024

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології
Кафедра екобіотехнології та біорізноманіття
Освітній ступінь «Магістр»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
_____
“____” _____2024 р.

З А В Д А Н Н Я
НА ВИПУСКНУ
МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ

_____Оставненко Катерині Володимирівні_____
(прізвище, ім’я, по батькові)

1. Тема роботи «Регулятори росту Стимпо та Регоплант у підвищенні активності ризосферних мікроорганізмів міскантусу (*Miscanthus x giganteus*)» керівник роботи д.с.-г.н., доцент Бородай Віра Віталіївна,

(прізвище, ім’я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

2. Строк подання студентом роботи _____

3. Вихідні дані до роботи біотехнологія отримання вакцин, антигени, гемаглютинуюча активність, вірус.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

4.1. Вивчити зміни чисельності еколого-трофічних груп ризосферних мікроорганізмів міскантусу (*Miscanthus x giganteus)* за дії Стимпо та Регопланту

4.2. Дослідити вплив біостимуляторів українського походження на активність грунтового мікробіому та підвищення біомаси рослин міскантусу

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	д.с.-г.н., доцент Бородай В.В.		
2	д.с.-г.н., доцент Бородай В.В.		
3	д.с.-г.н., доцент Бородай В.В.		

6. Дата видачі завдання 20 вересня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної бакалаврської роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Розділ 1. Огляд літературних джерел згідно обраної тематики	Грудень 2023 р.	
2	Розділ 2. Матеріали та методи проведення дослідження	Жовтень 2023 р.	
3	Розділ 3. Оформлення результатів експериментальної роботи	Вересень 2023 р. – жовтень 2024 р.	
4	Висновки, вступ, оформлення списку літратури	Жовтень 2024 р.	

Студент _____ **Оставненко К.В.**
(підпис) (прізвище та ініціали)

Керівник роботи _____ **Бородай В.В.**

Реферат

Тема магістерської роботи. Регулятори росту Стимпо та Регоплант у підвищенні активності ризосферних мікроорганізмів міскантусу (*Miscanthus x giganteus*).

Робота містить 53 сторінки, 3 розділи: 1 розділ містить 3 підрозділів; 2 розділ містить 3 підрозділи; 3 розділ містить 3 підрозділи, 55 пунктів наукової літератури. Робота вміщує в собі 7 ілюстрацій і 1 таблицю

Об'єкт дослідження: підвищенні активності ризосферних мікроорганізмів міскантусу (*Miscanthus x giganteus)* за дії Стимпо та Регопланту

Предметом дослідження: еколого-трофічні групи ризосферних ікроорганізмів, регулятори росту, *Miscanthus x giganteus*

Мета роботи: дослідити вплив біостимуляторів українського походження на активність грунтового мікробіому та підвищення біомаси рослин міскантусу

В першому розділі висвітлено основні положення про

В другому розділі магістерської роботи було викладено детальний опис методів, які були використані в роботі.

В третьому розділі було описано основні результати досліджень, згідно з якими у ході проведення досліджень наведено особливості

Ключові слова: еколого-трофічні групи ризосферних ікроорганізмів, регулятори росту, *Miscanthus x giganteus*

ЗМІСТ ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ……	
ВСТУП…….	
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ…….	
1.1. *Miscanthus* × *giganteus* як перспективна біоенергетична культура для вирощування на маргінальних землях та у стабілізації органічної речовини ґрунту……	
1.2. Роль грунтових мікробних у вирощуванні Miscanthus spp. за дії біостимуляторів……..	
1.3. Застосування біостимуляторів різного походження за вирощуванні міскантусу ……	
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ…….	
2.1. Умови та методи проведення досліджен…….	
2.2. Характеристика біостимуляторів Стимпо та Регоплант……	
2.3. …….	
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ……..	
3.1. Вплив регуляторів росту Стимпо та Регоплант на мікробіологічну активність ґрунту за вирощування міскантусу……	
3.2 Зміна чисельності і структури мікрофлори грунту за впливу регуляторів росту рослин за вирощування міскантусу…….	
3.3. Вплив застосування регуляторів росту Стимпо та Регоплант на продуктивність міскантусу ……	
ВИСНОВКИ…….	
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ……	

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

МПА – м'ясо –пептонний агар

КАА – крохмало-аміачний агар

РРР – регулятори росту рослин

Miscanthus × giganteus - M × g

ІОК – індоліл оцтова кислота

ВМ - важкі метали

ВСТУП

Miscanthus × *giganteus* Greef et al. 1997; Deuter 2000; Scally et al. 2001 є особливо перспективною біоенергетичною культурою для вирощування на маргінальних землях завдяки високій ефективності використання води та поживних речовин (Anderson et al., 2011).

Економічне виробництво енергії та матеріалів з міскантусу було продемонстровано в польових випробуваннях (Heaton та ін., 2004; Maughan та ін., 2012; McCalmont та ін., 2017; Jeżowski та ін., 2017; Götz та ін., 2022) і наступні дослідження все ще виникають у контексті маргінальних земель (Qin та ін., 2015; Jeżowski та ін., 2017; Scagline-Mellor та ін., 2018; Wagner та ін., 2019; Sahoo та ін., 2019 ; Zhang et al., 2020; Skousen 2023). Крім того, схильність агроекосистем Міскантуса до поглинання вуглецю в ґрунті була відзначена в багатьох дослідженнях (Clifton-Brown та ін., 2007; Nakajima та ін., 2018), у тому числі на маргінальних землях (Bazrgar та ін., 2020; Al Suki та ін., 2021).

Незважаючи на роль мікробів у стабілізації органічної речовини ґрунту, мало відоме механістичного розуміння того, як міскантус змінює структуру та функцію мікробної спільноти ґрунту, що призводить до накопичення органічної речовини ґрунту.

Мікробні спільноти сприяють здоров'ю рослин шляхом покращення солюбілізації макро- та мікроелементів, наприклад, фосфору, калію, заліза тощо, виробництва ауксину та/або цитокініну , етилену тощо, розподілу ніш у кореневому середовищі, біоконтроль патогенів, стимуляція захисту рослин.

Маловивченими є використання біостимуляторва українського походження Регопланту та Стимпо та вивчення їх впливу на еколого-трофічні угрупування мікроорганізмів ризосфери ґрунту *M* × *g*.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. *Miscanthus* × *giganteus* як перспективна біоенергетична культура для вирощування на маргінальних землях та у стабілізації органічної речовини ґрунту

З удосконаленням технологій біопереробки, які дозволяють ефективно переробляти лігноцелюлозну біомасу в біопаливо та інші цінні біопродукти, багато досліджень зосереджено на дослідженні та вдосконаленні вирощування рослин (Hood et al. 2012; Kerckhoffs and Renquist 2013). Ідеальні культури повинні мати високий і стабільний урожай лігноцелюлозного матеріалу, який необхідний у різних середовищах для підтримки виробництва біопалива протягом року, і високу ефективність використання ресурсів, щоб дозволити вирощування з мінімальними затратами (такими як добрива та зрошення) для вирощування, на маргінальних ґрунтах і з оптимальним лігноцелюлозним складом для ефективного перетворення на біопаливо та інші побічні продукти (Heaton та ін. 2008; van der Weijde та ін. 2013; Tubeileh та ін. 2016).

Рід Miscanthus включає близько 17 видів багаторічних високих трав, поширених у субтропічних і тропічних регіонах (Hodkinson et al. 2001). Серед них *Miscanthus tinctorius* (Stued.) Hack., *Miscanthus sinensis* Andersson, *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Benth. & Гачок. f. ex French є дуже важливим для виробництва біомаси.

Рід Віяльник або Міскантус (Miscanthus Anderss), згідно зботанічною класифікацією, належить до:

Домен: Еукаріоти (Eukaryota)

Царство: Рослини (Plantae)

Відділ: Вищі рослини (Streptophyta)

Судинні (Tracheophyta)

Надклас: Покритонасінні (Magnoliophyta)

Клас: Евдикоти

Підклас: Айстериди

Порядок: Тонконогоцвіті (Poales)

Родина: Тонконогові (Poaceae)

Підродина: Просові (Panicoideae)

Триба: Andropogoneae

Рід: Miscanthus Andersson

Представники триби Andropogoneae поширені у тропічних і помірних регіонах – у Західній Африці, Індії, Австралії і Південній Америці. Деякі з них, зокрема кукурудзу, цукрову тростину, міскантус та сорго, відносять до найефективніших фото синтезуючих рослин земної кулі (М.В. Роїк. 2019).

Гігантський міскантус, стерильний триплоїдний гібрид (*Miscanthus* × *giganteus* J.M.Greef, Deuter ex Hodk., Renvoize 2001*)*, отриманий шляхом схрещування диплоїдного *M. sinensis* і тетраплоїдного *M. sacchariflorus*, широко використовувався для розширення генетичної бази міскантусу та підвищення продуктивності сільськогосподарських культур.

Рис. 1.1. Рослини *Miscanthus* × *giganteus*

Міскантус, сезонна трава з типом фотосинтезу С4, що походить з Азії, використовується у відновлюваних джерелах палива та хімікатах, і останнім

часом привертає значну увагу навіть у регіонах з більш прохолодним кліматом, таких як Скандинавія (Brosse et al. 2012).

M × *g* до видів С4, які краще пристосовані до умов абіотичного стресу за деяких екологічних стресів, ніж види С3. Ці культури не тільки мають кращу фотосинтетичну ефективність і швидкість фіксації CO_2, але також покращують ефективність використання води та транспірацію, що свідчить про їх перевагу над рослинами С3 (Jańczak-Pieniążek M. Et al., 2024).

M × *g* характеризується високою врожайністю сухої речовини, високою ефективністю використання ресурсів (Sage and Zhu 2011) і низьким рівнем вартості вирощування. Його швидкий багаторічний ріст дозволяє щорічно збирати врожай протягом 15–30 років (Lewandowski et al. 2000; Heaton et al. 2004).

M × *g* вирощується в енергетичних цілях головним чином завдяки його високій генетичній мінливості, толерантності до стресу та біотичній взаємодії з фауною. Вид є хорошим кандидатом для розвитку біоенергетичних культур С4 на маргінальних землях. Крім того, його використовують як кормову культуру та будівельний матеріал. *M* × *g* можна вирощувати на маргінальних землях і землях, забруднених важкими металами Nie, G. et al., 2021.

Хоча було досягнуто значного прогресу в ідентифікації та розробці спеціальної лігноцелюлозної сировини, ідеальну високоефективну систему виробництва для маргінальних земель ще належить визначити.

Біопаливо вважається варіантом стійкої енергії, оскільки воно може пом'якшити викиди CO_2 і зменшити залежність від викопного палива (Núñez-Regueiro, M.M et al., 2019). Біоенергія – це відновлювана енергія, яка надходить від переробки кількох типів органічних джерел, які називаються біомасою, якими можуть бути деревина, відходи лісового господарства, залишки врожаю, гній, міські відходи, залишки харчової промисловості та багато інших побічних продуктів сільськогосподарських процесів (Ferrari, G.; Pezzuolo, A.; Nizami, A.-S.; Marinello, F., 2020). Енергетичні культури, на додаток до деревини, є

сировиною, яка зазвичай використовується для виробництва біопалива завдяки високій врожайності біомаси, високому врожаю біомаси, високій теплотворній здатності та низьким агротехнічним затратам. Виробництво біопалива здійснюється як шляхом прямого спалювання, так і шляхом біоферментації, тобто виробництва біогазу та біоетанолу. Однак виробництво біомаси для непродовольчих цілей не повинно базуватися на конкуренції за сільськогосподарські землі. Це стало причиною використання маргінальних ґрунтів із несприятливими агротехнічними характеристиками для непродовольчого вирощування (Khanna, M. et al., 2021). Плантації енергетичних культур протягом багатьох років сприяли як відновлюване джерело енергії в рамках політики Європейського Союзу та Сполучених Штатів Америки (Li, W., et al., 2020). Багаторічні енергетичні трави є хорошим варіантом, оскільки вони вимагають відносно низьких рівнів поживних речовин і демонструють високу врожайність на маргінальних землях.

Використання маргінальних земель (тобто земель, непридатних для економічно життєздатного агропродовольчого виробництва через погані природні умови або антропогенну деградацію) для біоенергетичних культур може зменшити попит на орні землі, необхідні для виробництва продуктів харчування (Kang et al., 2013).

Маргінальних земель у великій кількості, близько шести мільярдів гектарів у всьому світі (Gibbs and Salmon 2015). Залежно від історії землекористування маргінальні землі можуть мати умови, несприятливі для успішного розвитку рослин, такі як низький рівень поживних речовин у ґрунті, погана структура ґрунту або змінена гідрологія (Kang et al., 2013).

Надходження вуглецю з ексудації кореня міскантусу може досягати 0,5 г C г -1 рік живого кореня, що становить 0,4–1,7 Мг C г -1 рік -1 (Agostini та ін., 2015, Kaňová та ін., 2010). Ці відкладення стимулюють мікробних партнерів, таких як ризобактерії, що стимулюють ріст рослин (PGPR) (Keymer and Kent 2014; Li et al., 2016) і арбускулярні мікоризні гриби (Barnes et al., 2016).

Мікробні партнери, з іншого боку, постачають рослину водою та поживними речовинами. Таким чином, ця взаємодія рослин і мікробів може допомогти пояснити, чому міскантус зазвичай демонструє змінну або повну неврожайність у відповідь на додавання поживних речовин (Ma et al., 2021; Studt et al., 2021). Підземний внесок міскантусу може змінити мікробний вуглецевий цикл. Баланс вуглецю, який використовується для виробництва енергії, і вуглецю, включеного в мікробну біомасу, кількісно визначається як мікробна ефективність використання вуглецю (CUE). Оскільки вуглець, асимільований у мікробну біомасу та згодом у некромасу, міцно зв'язаний із мінералами ґрунту (Cotrufo та ін., 2013), він переважно утворює стабільну органічну речовину ґрунту.

1.2. Роль грунтових мікробних у вирощуванні Miscanthus spp. за дії біостимуляторів

Актуальними на сьогодні є оцінки ризосферних мікробних спільнот Miscanthus spp., використання інокуляції міскантусу PGPR для стимуляції росту рослин.

Щоб забезпечити стале постачання продовольства для постійно зростаючого населення світу, існує нагальна потреба в розробці кращих сільськогосподарських практик, які інтегрують стійкість в управління сільськогосподарськими методами, що призведе до підвищення врожайності, боротьби зі зміною клімату з мінімальна деградація ґрунту та навколишнього середовища, а також захист здоров'я людей для нинішнього та майбутніх поколінь. Ґрунтові мікробні спільноти відіграють важливу роль у центральних процесах, які забезпечують стабільність, продуктивність і стійкість агроекосистем, а ґрунт, який є міцним і функціонуючим, забезпечить необхідний кругообіг макро- та мікроелементів для оптимального зростання сільського господарства. Функції мікробіома мають більший потенціал і

можуть запропонувати рішення в поточній практиці сільськогосподарського виробництва та допомогти вирішити проблеми, пов’язані з продовольчою безпекою, вищою врожайністю та деградацією земель (Fadiji, A.E.; Babalola, O.O.; Santoyo, G.; Perazzolli, M. 2022).

Склад кореневих ексудатів змінюється під впливом декількох факторів навколишнього середовища, але мало відомо, як це впливає на корисні ризосферні або інокульовані мікроорганізми в умовах забруднення важкими металами (ВМ). В дослідженні in vitro з використанням кореневих ексудатів *M. x giganteus* оцінено транскрипційну відповідь *Pseudomonas putida* E36 (ізолят *Miscanthus x giganteus* з властивостями, що стимулюють ріст рослин) на Cd, Pb і Zn (Urška Zadel et al., 2022). Для збору кореневих ексудатів та аналізу їх складу рослини вирощували в горщиках за умов ВМ та контролю. Швидкість ексудації була вищою у рослин, які перебували в середовищі з ВМ. Крім того, 8 з 29 органічних кислот, ідентифікованих і кількісно визначених у кореневих ексудатах (наприклад, саліцилова і терефталева кислоти), зазнали значного впливу ВМ-середовища (Urška Zadel et al., 2022).

M. × giganteus толерантний до різних рівнів забруднення ґрунтів важкими металами і може бути використаний для рекультивації ґрунтів. Водночас мікроорганізми, пов'язані з його кореневою зоною, можуть впливати як на продукування біомаси, так і на відновлення ґрунту, стимулюючи ріст рослин безпосередньо (через покращення живлення рослин та продукування фітогормонів) та/або опосередковано (через зміну біодоступності металів). Виходячи з цього, фіторемедіація за допомогою мікробів вважається кращим підходом, ніж використання лише рослин .

Накопичення важких металів у рослинах залежить від ряду факторів, включаючи pH ґрунту, ступінь окислення металу і тип асоційованих бактерій. Ризобактерії, що сприяють росту рослин (PGPR), можуть відігравати важливу роль у фіторемедіації забруднених важкими металами ґрунтів завдяки їхній здатності сприяти росту рослин та впливу на розчинність і біодоступність

забруднювачів [14]. Такі властивості PGPR, як фіксація азоту, мобілізація фосфору та утворення сидерофорів, відповідають за покращення живлення рослин, вироблення фітогормонів для регулювання росту та розвитку рослин, а також здатність індукувати захисні механізми рослин для захисту господарів від біотичних та абіотичних стресових факторів [8, 9]. PGPR може підвищувати біодоступність важких металів і, таким чином, сприяти їхньому поглинанню рослиною. Однак застосування PGPR не завжди збільшує поглинання металів рослинами та сприяє відновленню ґрунту. Бактерії впливають на фітонакопичення металів, виділяючи позаклітинні органічні кислоти та полімерні іммобілізатори (ліпіди, нуклеїнові кислоти, білки, полісахариди, біосурфактанти) [9]. Ці речовини відіграють важливу роль в утворенні комплексів з металами, тим самим знижуючи їх біодоступність [11]. Основними механізмами зниження рухливості металів є біоакумуляція та біосорбція [9 , 16].

Необхідність розширити стійке вирощування лігноцелюлозних культур на маргінальних землях, включаючи забруднені металами (лоїдами) ґрунти, для виробництва біопалива, такого як стійке авіаційне паливо, і розширити знання про те, які біологічні продукти, застосовувані окремо або в комбінації, можуть призвести до впливу на ріст сільськогосподарських культур біомаси та фітоекстракційну здатність у забрудненому ґрунті представляє великий інтерес. Серед потенційних біологічних агентів мікориза (M) є важливою у сприянні розвитку кореневої системи, зв’язуванні металів (лоїдів) і поживних речовин. Досліджували також кореневі біостимулятори на основі гумінової та фульвової кислоти (B2) і позакореневі біостимулятори на основі протеїну та амінокислот (B1), які вважаються одними з найвідоміших продуктів для полегшення потенційно шкідливого впливу металу (loid)s на ріст рослин [25]. Зокрема, вважається, що гумінові речовини стимулюють розвиток культур як через непрямий вплив на родючість ґрунту, так і через прямий вплив на метаболізм рослин, і нещодавно були вивчені на лігноцелюлозних культурах з потенціалом

підвищення фіторемедіаційної здатності та обмеження втрати врожаю. Позитивна молекулярна роль білкових гідролізатів у стимуляції первинного та вторинного метаболізму рослин в умовах стресу та в покращенні засвоєння поживних речовин була підкреслена у все більшій кількості досліджень. Проведено оцінку впливу їх застосувань окремо (M, B1, B2) або в комбінації (MB1, MB2) на виробництво біомаси та фітоекстракційний потенціал чотирьох видів лігноцелюлозних рослин, культивованих у двох ґрунтах, забруднених металами (Cu , Zn, Cd, Cr, Pb і Sn), щоб вибрати для кожної культури обробку, яка може визначити найбільш відчутний ефект для наступних польових застосувань. Два лігноцелюлозних однорічники (*C. sativa* та *S. bicolor*) були випробувані в Італії та два багаторічники (*Miscanthus lutarioriparius* та *P. virgatum*) у Китаї, використовуючи експерименти в тепличних горщиках та ґрунт, зібраний із забруднених місцевих полів і оброблений біостимуляторами, застосованими як окремо та в комплексі (Peroni, P. et al. 2024).

1.3. Застосування біостимуляторів різного походження у вирощуванні міскантусу

Добре відомо, що якість і врожайність багатьох продовольчих культур можна покращити за допомогою біологічних добрив або інокуляції корисними ґрунтовими мікробами (Vessey 2003). Підвищення врожайності біомаси, вирощеної на маргінальних землях може бути досягнуто шляхом посилення їх росту за допомогою корисних ґрунтових мікробів і рослинних біостимуляторів (наприклад, екстрактів морських водоростей).

Незважаючи на те, що деякі дослідження з використанням органічних змін у ґрунті показали значне збільшення продуктивності міскантусу (Saletnik та ін. 2018), дослідження щодо покращення росту міскантусу за допомогою мікробів і рослинних біостимуляторів зустрічаються рідко.

Rothballer та ін. (2008) показали, що ендофітна, діазотрофна бетапротеобактерія *Herbaspirillum frisingense* Kirchhof et al. колонізували гігантський міскантус і показали позитивний результат щодо продукції ІОК та активності 1-аміноциклопропан-1-карбоксилату (ACC)-des.

На міскантусі досліджено ефективність екстрактів морських водоростей, які все частіше використовують у рослинництві, які вважаються органічним компонентом у рослинницьких системах і, як було показано, містять низку сполук, що стимулюють ріст рослин (Khan et al. 2009).

Відомо, що різні штами *Azospirillum* виробляють сидерофори, які можуть хелатувати Fe та сприяти його поглинанню пов'язаними рослинами-господарями *(* Sahoo et al. 2014). Є вагомі докази того, що штами *Azospirillum* spp. може бути природним чином пов'язаний з міскантусом (Eckert et al. 2001). Загальновизнано, що представники роду *Azospirillum* не тільки можуть посилювати ріст рослин шляхом вироблення фітогормонів але також що ці бактерії можуть фіксувати N_2 і передавати відновлений N своїм рослинам-господарям. Однак у поточному дослідженні не було жодних доказів збільшення накопичення азоту в міскантусі після обробки *A. brasilense* N8.

У польових випробуваннях на неякісних, маргінальних землях середнє значення сухої ваги пагонів міскантусу сортів «Amuri» і «Nagara» для всіх обробок становило 387 і 610 г/ $м^2$ відповідно. Ці врожаї були високими в порівнянні з типовими річними насадженнями *Miscanthus* × *giganteus* . Burner et al. (2015) повідомили про накопичення сухої речовини *Miscanthus* × *giganteus* у рік заснування при зрошенні на рівні 77 г $м^{-2}$ при щільності посадки 10 000 рослин на $га^{-1}$. Однак слід зазначити, що ці дослідження були дослідженням потенційних ефектів посилення росту корисних ґрунтових мікробів і рослинного біостимулятора, а не випробуванням комерційного виробництва міскантусу. Щільність посадки тестових ділянок у цьому дослідженні становила 6,7 рослини $м^2$, що набагато більше, ніж типова комерційна щільність посадки кореневищ або мікророзмножених рослин при 1–2 рослинах

м $^{-2}$ (Witzel and Finger 2016). Отже, слід бути обережним, порівнюючи накопичення сухої речовини пагонів у цьому дослідженні з промисловим виробництвом міскантусу.

Встановленр сприятливий вплив корисних ґрунтових мікробів і рослинного біостимулятора (екстракту морських водоростей *A. nodosum*) на ріст і накопичення поживних речовин були виявлені в двох сортах гігантського міскантусу, хоча ефекти різнилися в залежності від обробки, сорту та зростання.

Під час тепличних випробувань три обробки (*G. diazotrophicus* PAL5T LsdB, G. johannae UAP-Cf-76 і V. paradoxus JM67) збільшили ріст «Amuri» до 24% порівняно з необробленими контрольними групами, тоді як дві різні обробки (екстракт водоростей P. bilaiae та A. nodosum) прискорили ріст «Nagara» до 11%. Ці різні відповіді чітко вказують на специфічний для сорту вплив добавок на ріст рослин. Такі специфічні ефекти хазяїна × штаму дуже поширені в інших взаємодіях рослин і мікробів, таких як симбіози бобів і ризобій (Wang et al. 2012).

У тепличних умовах у всіх випадках, де спостерігався позитивний вплив обробки на пагони DW, вміст поживних речовин у пагонах також збільшувався (за винятком Fe «Амур»). Також цікаво відзначити, що в той час як збільшення DW пагонів коливалося від 15% до 24% у Амурі та 10% до 11% у Нагарі, вміст поживних речовин у пагонах збільшився більшою мірою (тобто 25%–44%). Той факт, що вміст поживних речовин збільшився відносно більше в цих рослинах, ніж у пагонів DW, свідчить про те, що більша доступність поживних речовин може бути причиною посиленого росту.

Рослини змогли вижити у всіх варіантах забрудненого грунту. Однак навіть із найменшою часткою забрудненого ґрунту у варіанті 2 параметри біомаси зазнали значного впливу, за винятком співвідношення біомаси стебла/листя. У варіантах 3–5 із вищим коефіцієнтом забруднення ґрунту маса біомаси та висота пагона вже суттєво зменшилися. У забрудненому ґрунті всі

досліджувані показники знизилися порівняно з контролем. Пригнічення маси біомаси було більш інтенсивним, ніж пригнічення довжини пагонів. Іншим негативним спостереженням було те, що підвищений рівень забруднення також зменшив співвідношення біомаси стебла/листя, яке має бути високим для подальшої промислової переробки біомаси для виробництва палива чи паперу.

Раніше було показано, що деякі з мікробів і екстракту морських водоростей, використаних у цій роботі, сприяють зростанню інших лігноцелюлозних культур з біомаси. Fei та ін. (2017 *b*) повідомили, що накопичення біомаси в гібридних клонах тополі (*Populus* ×) «Okanese» і «Walker», вирощених як в теплиці, так і в польових умовах, значно посилилося при обробці або *A. brasilense* N8, або *P. bilaiae* до 23 % і 26 % відповідно. Екстракт морських водоростей *A. nodosum* збільшив зростання другого року клону «Walker» на 16%. Пітерс та ін. (2018) досліджували вплив дев'яти різних речовин, що стимулюють ріст (бактеріальні та грибкові види, екстракт морських водоростей *A. nodosum* і ліпохітоолігосахарид) на *Arundo donax* L., трав'яну культуру біомаси C3 середземноморського походження. Дослідження проводили в тепличних умовах з використанням двох методів інокуляції та в польових умовах у Новій Шотландії. Використовуючи метод замочування коренів для інокуляції рослин, обробки *A. brasilense* N8 і *P. bilaiae* у теплиці призвели до збільшення росту пагонів на 31% і 32% відповідно. Пітерс та ін. (2018) також виявили, що обробка *V. paradoxus* JM63 за тих же умов призвела до збільшення росту пагонів *A. donax* на 40%; однак обробка екстрактом водоростей *A. nodosum* і *G. diazotrophicus* PAL5T LsdB $^{++}$ не вплинуло на ріст.

В деяких випадках *G. diazotrophicus* PAL5T LsdB $^{++}$, *G. johannae* UAP-Cf-76, *P. bilaiae* , екстракт морських водоростей (*A. nodosum*), і *V. paradoxus* JM67 можуть посилити ріст пагонів і накопичення поживних речовин у сортах міскантуса.

Підвищення продуктивності Miscanthus spp. завдяки застосуванню біостимуляторів може бути пов'язане зі збільшенням доступу до обмежених

поживних речовин у ґрунті. Потрібні додаткові дослідження, але цей підхід може сприяти більш стійкому вирощуванню енергетичних культур для отримання біомаси на маргінальних землях та для виробництва біопалива з меншими ресурсами.

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Умови та методи проведення досліджень

Лабораторний модельний дослід проводили сумісно з к.б.н. Стефановською Т.Р. Медковим А.І., Медковим А.І., заступником директора Державного підприємства "Міжвідомчий науково-технологічний центр "Агробіотех" НАН і МОН України.

На глибину близько 10 см в пластикових горщиках ємністю 15 кг висаджували дві ризоми *M. x g* сорту «Ранкова зоря» (3 роки) із середньою вагою 20 ±2 г та кількість бруньок не менш, ніж 4-5 бруньками. Ризоми отримали з розсадника Інституту цукрових буряків та біоенергетичних культур. Різоми обробляли препаратами Стимпо та Регоплант. У контролі ризоми обробляли чистою водогінною водою.

Біостимулятори Стимпо та Регоплант також застосовували шляхом двократного обприскування рослини під час вегетації.

Концентрація Стимпо для обробки ризомів перед висадкою становила 25 мл/л, а для обприскування 10, 25 та 50 мл/л, для Регопланту концентрація становила 250 мл /т при замочуванні ризомів та 50, 120 та 250 мл/л, при обробленні наземної частини рослини.

Перше обприскування здійснювали при появі справжні 3-4 пари листків *M×g,* а друге обприскуванні при наявності 6 пар листків. Протягом вегетації 2–3 рази на тиждень рослини поливали водогінною водою. Експеримент тривав до моменту пожовтіння надземної біомаси, що складало в середньому 130 діб.

Протягом вегетації кожні два тижні проводили заміри кількісних (морфометричних) показників росту рослини: довжини стебел, кількості листя, довжини коренів у трикратному повторені.

Облік урожаю здійснювали методом суцільного обрізання біомаси в горщику та зважування зеленої маси із визначенням вмісту в ній сухої речовини в трикратному повторенні.

Урожайність сухої біомаси визначали за методикою Schmidt-Walter, Paul (2012).

2.2. Характеристика біостимуляторів Стимпо та Регоплант

Українські новітні рослинні біостимулятори Регоплант та Стимпо із серії багатокомпонентних препаратів на основі синергічного ефекту взаємодії женьшеню та продуктів біотехнологічного культивування мікроміцетних грибів кореневої системи аверсектинів.

Препарати широкого спектру дії Регоплант та Стимпо, рекомендовані для обробки насіння зернових, зернобобових, олійних, овочевих культур перед посівом, обробки рослин у вегетаційний період, а також для обприскування злаково-злакових культур, для масового застосування на рослинах. Підвищують стійкість рослин до несприятливих кліматичних умов (посуха, заморозки), польову схожість і схожість насіння.

Розвивають симбіотичну мікрофлору в зоні кореневої системи, в результаті чого посилюється розвиток первинної та вторинної кореневої системи, покращуть фотосинтетичну активність і розвиток поверхні листя.

Амінокислоти в Регоплант та Стимпо, яких більше 11 видів, активізують метаболізм клітин, допомагають поживним речовинам і молекулам бути в доступній формі і проникати в рослину; жирні кислоти підвищують імунітет рослини щодо хвороб; хитозан попереджає розвиток захворювань і шкідників рослин. Містять хелатний комплекс мікроелементів, що ефективно живить рослину дефіцитом мікроелементів K, Ca, Fe, Cu, B, Mn, Zn, Mo, Co, Mg, S, N.

Препарат Аверсектин в складі біостимулятрів, забезпечує антипаразитну дію на БІО рівні з інсектицидним ефектом.

Діюча речовина Стимпо (ТУ У 20.2-31168762-005.2012)**:**

- ✓ Комплекс біологічно-активних сполук - продукти життєдіяльності грибів-мікроміцетів - 1 г/л (насичені і ненасичені жирні кислоти (С14-С28), полісахариди, 15 амінокислот, аналоги фітогормонів цитокінінової та ауксинової природи)
- ✓ Комплекс біогенних мікроелементів - 0,014 г/л

Аверсектин С - продукт життєдіяльності актиноміцету *Streptomyces avermytilis*

Діюча речовина Регопланта (ТУ У 20.2-31168762-006:2012)**:**

- ✓ Комплекс біологічно-активних сполук - продукти життєдіяльності грибів-мікроміцетів - 0,3 г/л (насичені і ненасичені жирні кислоти (С14-С28), полісахариди, 15 амінокислот, аналоги фітогормонів цитокінінової та ауксинової природи)
- ✓ Комплекс біогенних мікроелементів - 1,75 г/л
- ✓ Калієва сіль альфа-нафтилоцтової кислоти - 1 мг/л

Аверсектин С - продукт життєдіяльності актиноміцету *Streptomyces avermytilis.*

2.3. Визначення агрохімічних показників та еколого-трофічних груп мікроорганізмів ризосфери міскантусу

Агрохімічні показники – вміст гідролізованого азоту, рухомих форм калію та фосфору визначали за наступними ДСТУ:

- ДСТУ ISO10390:1994, IDT Якість ґрунту. Визначення pH;
- ДСТУ 4115-2002 Ґрунти. Визначення рухомих сполук фосфору і калію за модифікованим методом Чирикова;
- ДСТУ 7863:2015 Якість ґрунту. Визначення легкогідролізного азоту методом Корнфілда.

Мікробні характеристики ґрунту оцінювали на підставі чисельності еколого-трофічних груп груп мікроорганізмів, визначали за Гудзь С., Гнатуш С., Білінська І.(2003); Koubek, J. et al. 2012).

Кількість грибів та бактерій у ризосфері рослин визначали методом культивування на селективному середовищі. Зразки ґрунту відбирали у кінці періоду вегетації, визначали вологість ґрунту Гудзь С., Гнатуш С., Білінська І.(2003). Дослідження проводили у лабораторії промислової біотехнології кафедри екобіотехнології та біорізноманіття.

Для визначення груп використовували наступні живильні середовища: сапрофіти, у тому числі мікроорганізми, що використовують органічні форми азоту (аммоніфікатори) - м'ясопептонний агар (МПА); мікроскопічні гриби - на середовищі Чапека; мікроорганізми, в тому числі актиноміцети, здатні використовувати мінеральні форми азоту - на крохмально-аміачному агарі (КАА); азотфіксатори та олігонітрофільні мікроорганізми визначали на середовищі Ешбі (в тому числі для Azotobacter spp.).

Для характеристики спрямованості мобілізаційних процесів ґрунту визначали співвідношення еколого-трофічних груп мікроорганізмів. За співвідношенням груп мікроорганізмів розраховувалися коефіцієнти мінералізації - співвідношення числа амілолітичних мікроорганізмів до

амоніфікуючим (КАА/МПА), іммобілізації – співвідношення амоніфікаторів до мікроорганізмів, які споживають мінеральний азот (МПА/КАА).

Індекс Шенона розраховували за:

$$H' = -\sum_{i=1}^{S}(p_i \cdot \ln p_i)$$

Де:

H' — індекс Шенона, що характеризує різноманіття;

S — загальна кількість видів (або груп мікроорганізмів) у зразку;

p_i — відносна частка (частота) і-го виду в загальній популяції;

ln — натуральний логарифм.

Індекс Сімсона а розраховували за:

$$D = \sum_{i=1}^{S} p_i^2$$

Де:

D — індекс домінування Сімпсона;

S — загальна кількість видів (або груп мікроорганізмів) у зразку;

p_i — відносна частка (частота) і-го виду в популяції.

Статистичну обробку даних проводили за програмою MS ® Excel ® 2010.

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Вплив регуляторів росту Стимпо та Регоплант на мікробіологічну активність ґрунту за вирощування міскантусу

Оскільки міскантус здатний бути високопродуктивним на маргінальних землях, незважаючи на несприятливі умови, він може змінювати умови ґрунту, викликаючи накопичення органічної речовини. Міскантус демонструє високу швидкість фотосинтезу, і більша частина цього фіксованого вуглецю відправляється під землю у вигляді живої кореневої біомаси та кореневих відкладень (Agostini та ін., 2015; Кейн та ін., 2022b). Ці надходження вуглецю можуть формувати структуру та функцію ґрунтового мікробіому, змінюючи кругообіг органічних речовин ґрунту. Органічна речовина ґрунту динамічно обертається та стабілізується мікробною активністю, яка залежить від взаємодії рослин і мікробів, умов навколишнього середовища, складу мікробного співтовариства та багатьох інших факторів (Six et al., 2006).

Кількість сапрофітних бактерій, що визначали на м'ясо-пептонному агарі (МПА) за використання регуляторів росту перевищувала контрольний варіант. Вона була найвищою за застосування Регопланту у концентрації 120мл/л-варіант Р2 – 23,2 млн КУО/г. У ризосфері міскантусу чисельність бактерій на МПА у варіанті з Стимпо (25 мл/л) також була високою – 22,8 млн КУО/г. Решта варіантів коливалась у межах 16,1-18,9 млн КУО/г, а у контрольному варіанті становила 12,9 млн КУО/г.

Кількість бактерій, які споживають органічні та мінеральні форми азоту в ґрунті, характеризує біогеохімічний кругообіг азоту та стан ґрунтової мікробіоти. Цей показник є ключовим для оцінки родючості ґрунту та його здатності підтримувати ріст рослин. Бактерії, які споживають органічний азот відповідають за процеси амоніфікації - перетворення органічних сполук азоту

(білків, амінокислот) на амоній (NH_4^+) та аміак NH_3. Висока кількість цих бактерій свідчить про активний процес розкладання органічних залишків у ґрунті. Серед мікроорганізмів переважно зустрічались гетеротрофні бактерії та гриби, такі як представники родів *Bacillus, Clostridium, Proteus, Pseudomonas*, а також гриби роду *Penicillium* та *Aspergillus*.

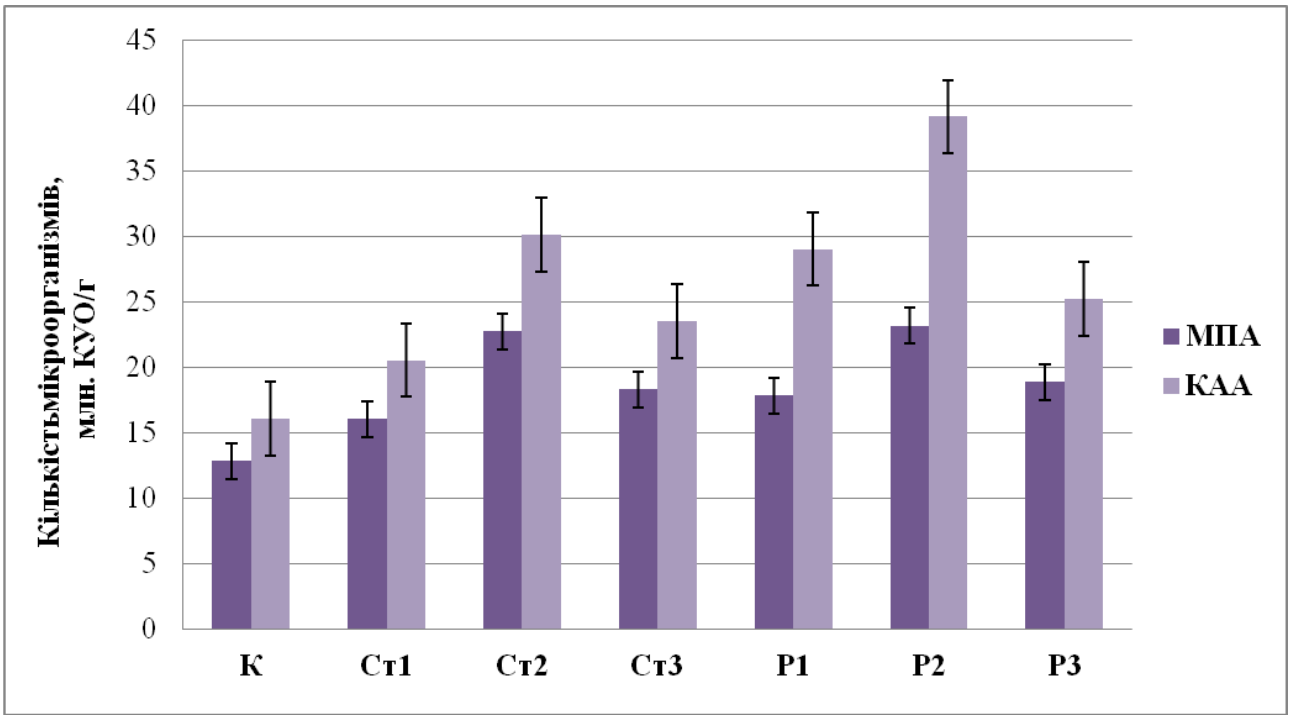


Рис. 1 Чисельність бактерій, що споживають органічні та мінеральні форми нітрогену, у ризосфері міскантусу за дії РРР, млн. КУО/г

(К – контроль, Стимпо, мл/л: С1 - 10, С2 - 25 та С3 - 50, Регоплант, мл/л: Р1 - 50, Р2 - 120 та Р3 – 250)

Кількість мікроорганізмів, що споживають мінеральний азот (NH_3), і ростуть на крохмально-аміачному агарі (КАА), і зазвичай належать до групи нітрифікуючих бактерій або амоніфікуючих бактерій, була в цілому вище у варіантах із застосуванням регуляторів росту. За використання Регопланту у концентрації 120мл/л- варіант Р2 – вона становила 39,2 млн КУО/г. До цього варіанту наближалися варіант з Стимпо (25 мл/л) – 30,2 млн КУО/г та Р3 (Регопланту у концентрації 250 мл/л) – 29,1 млн КУО/г. Решта варіантів коливалась у межах 20,6-25,3 млн КУО/г.

В результаті процесів мінералізації азотовмісних органічних сполук у ґрунті утворюється кінцевий продукт розкладання – аміак, і в подальшому зростає чисельність нітрифікаторів.

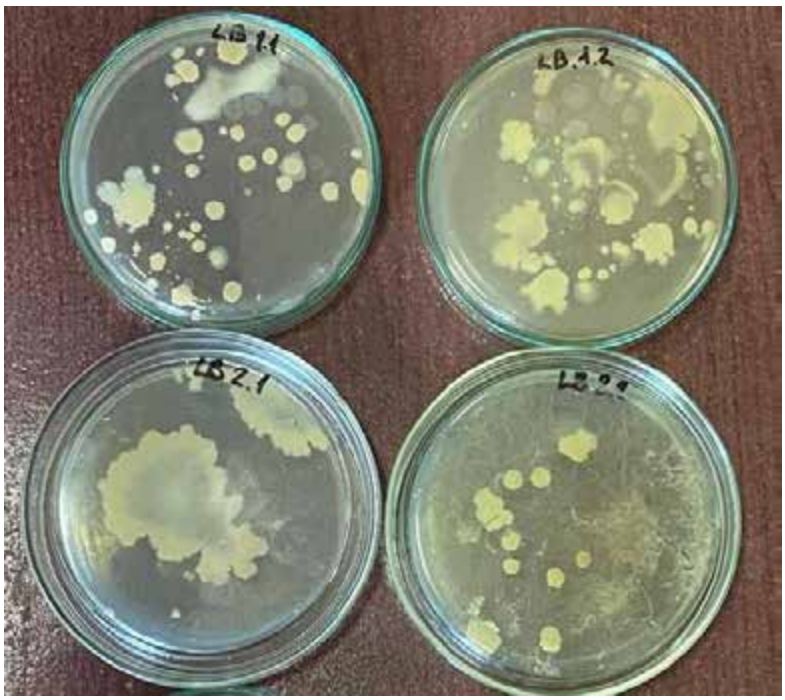


Рис. Дослідження чисельності бактерій, що споживають органічні та мінеральні форми нітрогену, у ризосфері міскантусу за дії РРР

Найбільша кількість мікроорганізмів, що беруть участь в окисленні відновлених форм азоту, спостерігалася у ризосфері рослин, оброблених Стимпо у концентрації 25 мл/л та Регоплантом у концентрації 120 мл/л. Інші концентрації РРР виявились менш ефективними.

Головною особливістю олігонітрофілів, що фіксують атмосферний азот, є здатність розвиватися за дуже низького вмісту азоту в субстраті. Обробка Регоплантом у концентрації 120 мл/л та Стимпо у концентрації 25 мл/л сприяла збільшенню їх чисельності на 19-19,9%.

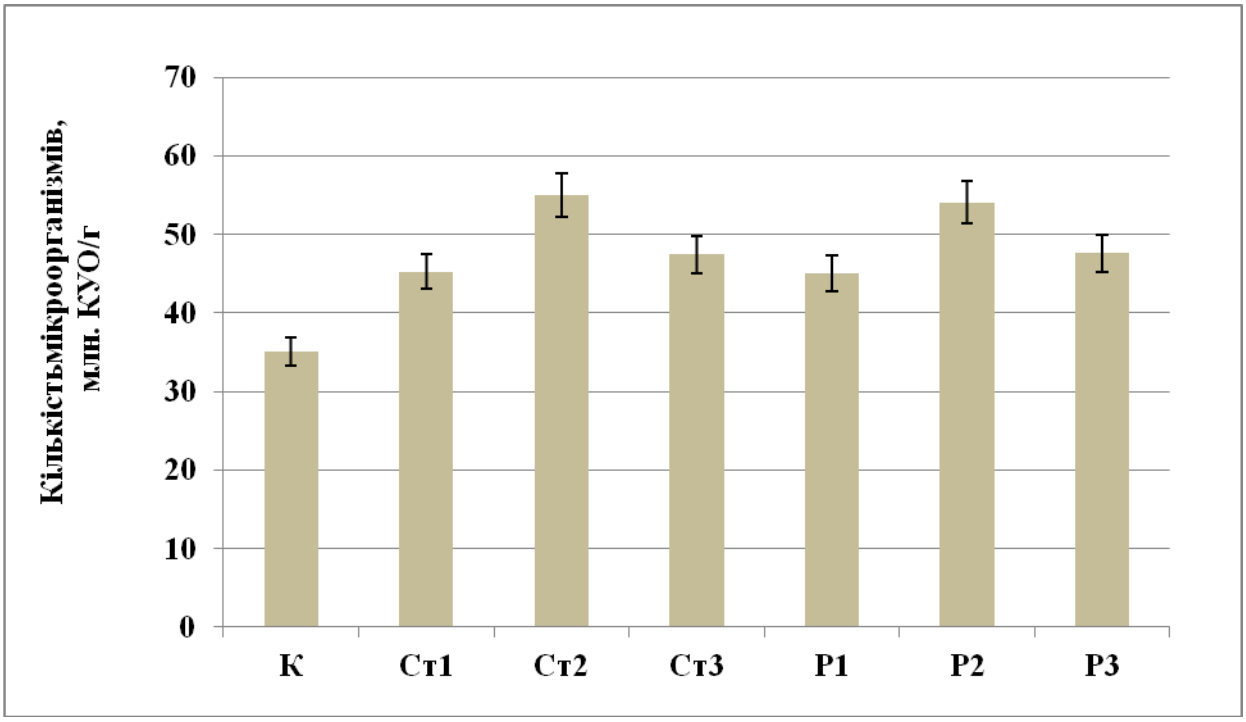


Рис. Чисельність олігонітрофілів у ризосфері міскантусу за дії РРР, млн. КУО/г (К – контроль, Стимпо, мл/л: С1 - 10, С2 - 25 та С3 - 50, Регоплант, мл/л: Р1 - 50, Р2 - 120 та Р3 – 250)

У решти варіантів вміст олігонітрофілів у ризосфері міскантусу становив 45,3-47,6 млн. КУО/г, а уконтролі – 35,1 млн. КУО/г.

Збільшення кількості олігонітрофілів у ризосфері рослин міскантусу під впливом регуляторів росту Регоплант та Стимпо свідчить про покращення мікробіологічної активності ґрунту та взаємодії між рослинами і мікроорганізмами. Олігонітрофіли можуть використовувати для свого метаболізму низькі концентрації мінеральних форм азоту (аміак, нітрати). Вони підтримують азотний баланс, сприяють мінералізації органічного азоту та створенню доступних для рослин форм азоту, розкладанню органічної речовини.

Можна припустити, що регулятори росту рослин Стимпо і Регоплнт стимулюють секрецію кореневих ексудатів, а саме вміст цукрів, амінокислот та органічних кислот у ризосфері збільшується. Це створює сприятливе середовище для розвитку олігонітрофілів. Також це призводить до зміни

фізичних та хімічних властивостей ґрунту, а саме покращується структура ґрунту та регулюється його pH, що позитивно впливає на азотфіксуючі мікроорганізми.

Чисельність сапрофітних грибів у ризофері міскантусу за дії регуляторів росту рослин Стмпо та Регоплант збільшувалася в 1,3-1,9 рази.

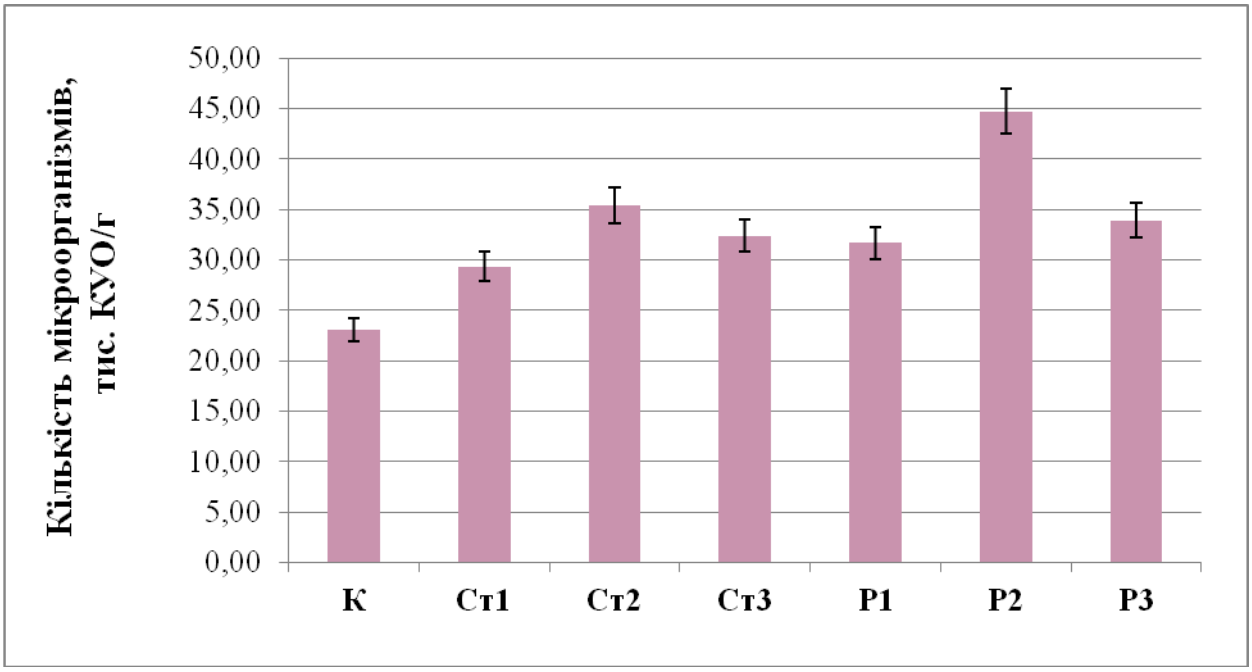


Рис.Чисельність мікроміцетів у ризосфері міскантусу за дії РРР, тис. КУО/г (К – контроль, Стимпо, мл/л: С1 - 10, С2 - 25 та С3 - 50, Регоплант, мл/л: Р1 - 50, Р2 - 120 та Р3 – 250)

Кількість сапротрофних грибів у ризосфері міскантусу під впливом регуляторів росту рослин є важливим показником мікробіологічної активності ґрунту та ефективності регуляторів росту. У контролі їх чисельність становила 23,1 тис. КУО/г, за використання Регопланту у концентрації 120 мл/л – 44,7 тис. КУО/г, у решти варіантів цей показник становив 39,1- 35,4 тис. КУО/г.

Серед сапротрофних грибів відмічено види із родів *Penicillium, Mucor, Gliocladium, Cladosporium* та *Trichoderma.*

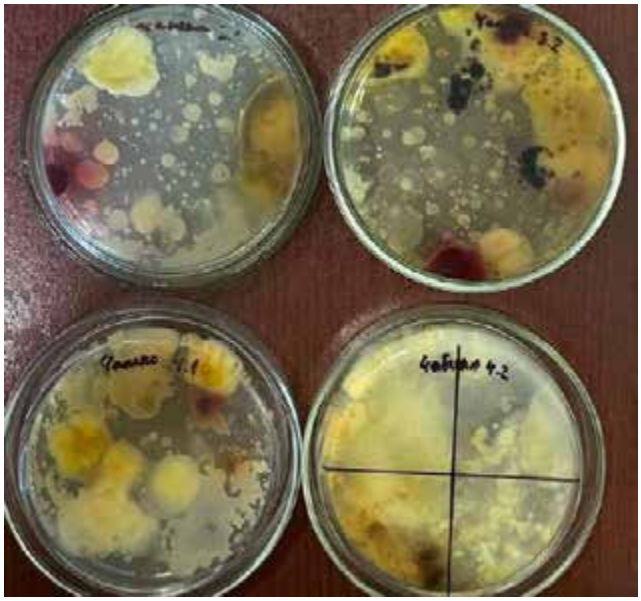


Рис. Дослідження чисельності сапротрофних мікроміцетів у ризосфері міскантусу за дії РРР

Bourgeois, E., Dequiedt, S., Lelièvre, M. et al. (2015) дослідили, що мікробний таксономічний склад ґрунту за вирощування міскантусу. Їх результати демонструють, що вирощування міскантусу стимулює зростання популяцій бактерій, таких як *Rhizobiales*, у 1,4 рази, *Nistrospira* (x1,5), *Azospira* (x2) і *Gemmatimonas* (x2), а також грибів: *Glomeromycota* (x3) і *Mortierella* (x1,5) для грибів. Слід зазначити, що ці мікробні роди, як відомо, активно залучені в симбіоз рослин, мінералізацію органічної речовини та кругообіг поживних речовин.

У ризосфері ґрунті чисельність гетеротрофних бактерій становила більше трьох, а мікроскопічних грибів - більш ніж на два порядки, цихі груп в неризосферному ґрунті. Подібні залежності виявлені і для чисельності аеробних діазотрофних бактерій роду Azotobacter. Для порівняння кількість *Clostridium pasteurianum* залишилася на тому ж рівні незалежно від відстані від коренів. Значне збільшення кількості досліджуваних бактерій у ризосферному грунті по відношенню до неризосферного ґрунту може бути спричинено наявністю органічних сполук, що виділяються кореневою системою рослин міскантусу, таких як моносахариди, амінокислоти та органічні кислоти (Técher

та ін. 2011). Ці сполуки можуть бути використані мікроорганізмами для їх росту і розвитку. Збільшення грибних популяцій має, з одного боку, позитивне вплив на властивості ґрунту, оскільки гриби беруть участь у розщепленні органічної речовини і тим самим у «обігу елементів у природі». З іншого боку, гриби синтезують токсини, а отже, мають негативний вплив на грунтові організми.

Чисельність мікроорганізмів у ризосферному ґрунті залежить не тільки від властивостей ґрунту, а й від кореневих ексудатах. З цієї причини, мікробна активність у ризосфері рослин міскантусу, виражене кількістю фізіологічних груп мікроорганізмів, протікає по-різному ніж у ґрунті поза ризосферою.

Отже, застосування біостимуляторів Стимпо та Регоплант за вирощування міскантусу покращує мікробіологічну активність шляхом стимулювання популяцій, сприятливих для родючості ґрунту.

3.2. Зміна чисельності і структури мікрофлори грунту за впливу регуляторів росту рослин за вирощування міскантусу

Коефіцієнти мінералізації ґрунту та іммобілізації азоту є важливими показниками, які показали баланс між процесами перетворення органічного азоту в мінеральні форми (доступні для рослин) та зв'язуванням азоту в недоступні органічні сполуки мікроорганізмами у ризосфері міскантусу за дії Стимпо та Регопланту. Баланс між бактеріями, які споживають органічний і мінеральний азот, вказує на здатність ґрунту забезпечувати рослини доступними формами азоту. Висока кількість амоніфікаторів може свідчити про активне розкладання органічної речовини, а нітрифікаторів - про окислення мінеральних форм азоту.

Коефіцієнт мінералізації та іммобілізації азоту свідчить про інтенсивну мінералізацію органічної речовини в ґрунті. Найвищі значення даного коефіцієнту (1,69 та 1,63) були характерні для мікробіому ґрунту за використання Регопланту у концентрації 120 мл/л та 50 мл/л відповідно. Це

сприяє доступності азоту, оскільки мікроорганізми активніше розкладають органічні речовини.

У решти варіантів цей показник становив 1,28-1,34, а уконтролі – 1,25.

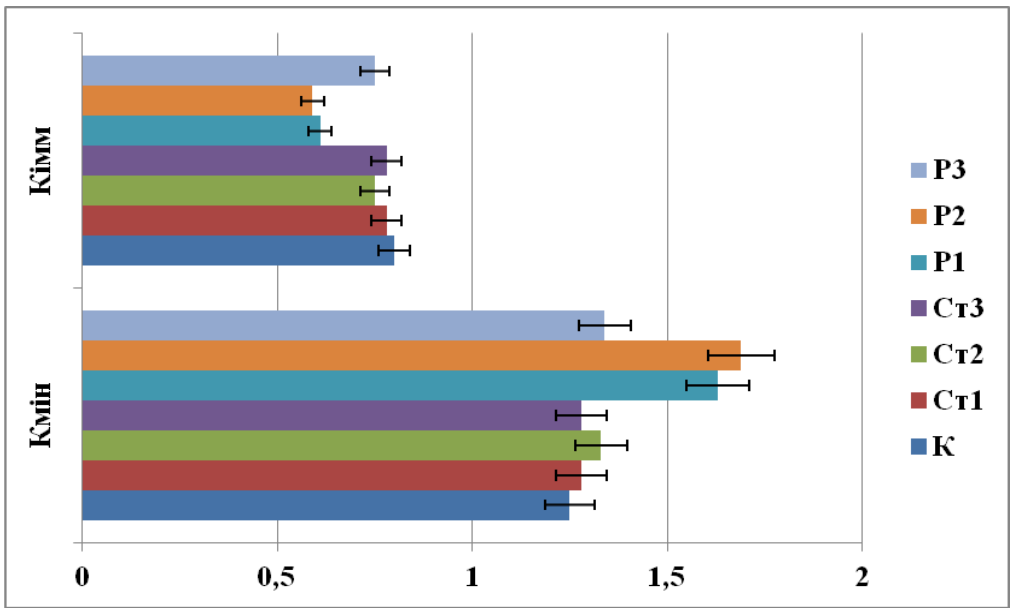


Рис. Спрямованість мікробіологічних процесів за коефіцієнтами іммобілізації (Кімм) та мінералізації (Кмін) у ризосфері міскантусу за дії РРР, тис. КУО/г (К – контроль, Стимпо, мл/л: С1 - 10, С2 - 25 та С3 - 50, Регоплант, мл/л: Р1 - 50, Р2 - 120 та Р3 – 250)

У складі біостимулятору Регоплант є насичені і ненасичені жирні кислоти, полісахариди, 15 амінокислот, аналоги фітогормонів цитокінінової та ауксинової природи. Ці сполуки стимулювали діяльність мікроорганізмів, які розкладають органічні речовини, підвищуючи мінералізацію, що сприяє доступності азоту для рослин.

За даними обліку чисельності мікроорганізмів ризосфери ґрунту за вирощування міскантусу встановлено, що застосування біостимуляторів Стимпо і Регоплант сприяє збільшенню загальної кількості бактерій в ґрунті порівняно з контролем в 1,2-1,8 раз, збільшується чисельність сапротрофних мікроміцетів, серед якихє види, що ефективно конкурують з фітопатогенними грибами (табл.).

Таблиця

Зміна чисельності і структури мікрофлори грунту

за впливу регуляторів росту рослин за вирощування міскантусу

Варіант досліду	Концентрація, мл/л	**Бактерії**			**Мікроміцети**		
		Загальна чисельність колоній, $x10^6$ КУО/г абс. сух. ґрунту	Індекс видового різноманіття Шенона	Індекс домінування Сімпсона	Загальна чисельність колоній, $x10^3$ КУО/г абс. сух. ґрунту	Індекс видового різноманіття Шенона	Індекс домінування Сімпсона
Контроль	-	10,85±4,04	1,87	1,17	23,16±2,14	1,32	1,08
Стимпо	10,0	16,05±5,41	1,98	1,11	29,33±3,28	1,53	0,94
	25,0	18,20±1,89	2,15	1,02	40,20±3,74	1,60	0,90
	50,0	17,30±8,39	2,09	1,09	32,44±2,53	1,41	0,97
Регоплант	50,0	12,85±2,14	1,96	1,15	31,72±1,35	1,38	1,12
	120,0	20,75±6,35	2,23	0,89	42,89±3,24	1,69	0,85
	250,0	14,90±3,45	2,05	1,12	33,93±2,76	1,45	1,06

Так, індекс Шенону для загальної чисельності бактерій та грибів за використання Регопланту у концентрації 120 мл/л становив 2,23 та 1,69 відповідно, а Стимпо у у концентрації 25 мл/л – 2,15 та 1,6 відповідно. У контролі ці показники становили 1,87 та 1,32 відповідно. Біостимулятори стимулюють розвиток різних груп мікроорганізмів (азотфіксатори, фосфатмобілізатори), мікоризні гриби, що призводить до збільшення значення індексу Шеннона, оскільки кількість видів збільшується, а їхня чисельність вирівнюється.

З фітопатогенних мікроміцетів найбільш поширеними виявилися представники роду *Fusarium spp*. (збудники фузаріозної гнилі ризо мів міскантусу), а з сапротрофів виявлені *Trichoderma spp.,* які є антагоністами збудника фізріозу.

Рис. Кореневища ризо мів, уражені збудником фузаріозної гнилі. Макро та мікроконідії *Fusarium spp*.

На рисунку видно здорові (А) та уражені (Б) кореневища *Miscanthus x giganteus,* поперечні зрізи кореневищ міскантусу (С), з коричневим забарвленням тканин порівняно зі здоровими кореневищами.

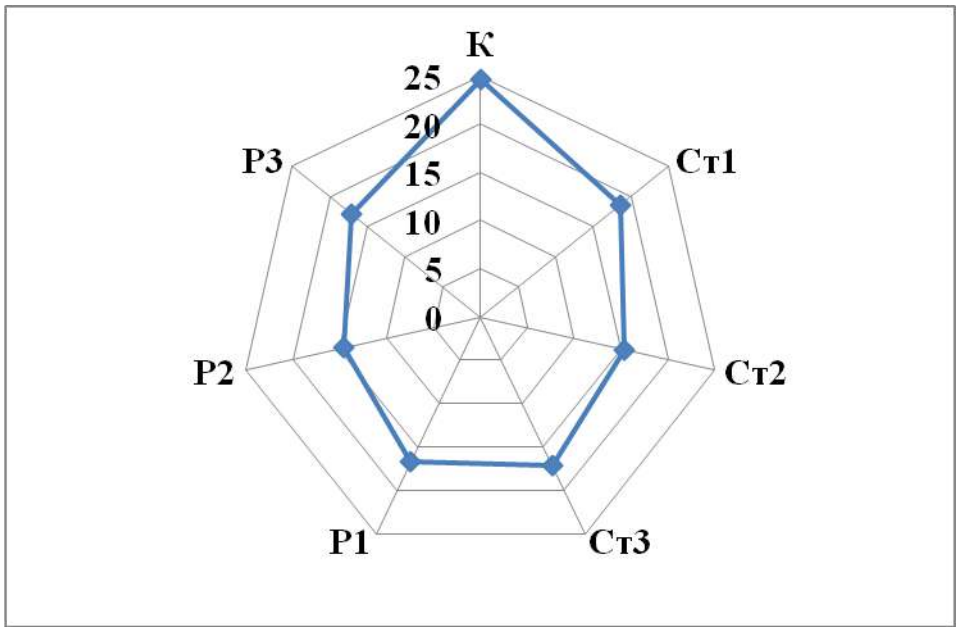


Рис. Вплив регуляторів росту на чисельність грибів роду *Fusarium* у ризосфері рослин міскантусу, тис.КУО/г

(К – контроль, Стимпо, мл/л: С1 - 10, С2 - 25 та С3 - 50, Регоплант, мл/л: Р1 - 50, Р2 - 120 та Р3 – 250)

Як видно з графіку, регулятори росту позитивно впливали на стримування розвитку фітопатогену. Найкраще стримував ріст збудника фузаріозної гнилі Регоплант у концентрації 120 мл/л. За цієї концентрації чисельність грибу становила 14,6 тис.КУО/г. Це було на 40,7 % менше ніж у контролі. Також ефективною виявилась концентрація Стимпо 0,25 мл/л, за якой чисельність *Fusarium spp.* була 15,4 тис.КУО/г. У решти варіантів цей показник коливався від 16,7 до 18,6%, а у котролі станов 24,6 тис.КУО/г.

Міскантус має великий потенціал як біоенергетична культура, однак доступна обмежена інформація про взаємодію між міскантусом і ґрунтовими грибами, які є патогенними для інших культур. Міскантус може бути сприйнятливим до ґрунтових патогенів, присутніх у ґрунті до висадки культури (Glynn, E. et al., 2014).

В Італії *Fusarium avenaceum, Fusarium oxysporum і Mucor hiemalis* були вперше зареєстровані як збудники кореневої гнилі міскантусу на перших етапах розвитку рослин (Glynn, E. et al., 2014). Міскантус сприйнятливий до ряду збудників хвороб. Ряд грибів викликає значний рівень інфекції на листках Міскантуса: *Rhizoctonia solani, Fusarium poae (Fusarium sporotrichiella var. poae) і Fusarium culmorum* викликали найбільший рівень ураження рослин.

Фузаріоз є відомим збудником і здатність виживати як на живій, так і на мертвій тканині рослин міскантусу є важливою, оскільки це свідчить про те, що міскантус може діяти як «місток хвороби».

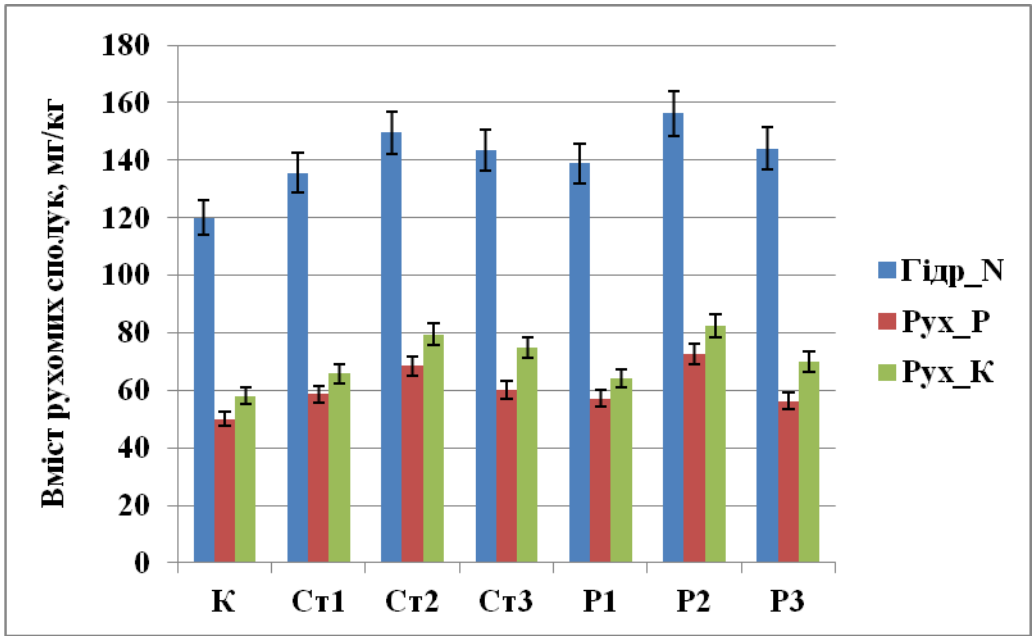
3.3. Вплив застосування регуляторів росту Стимпо та Регоплант на продуктивність міскантусу

Підсумком діяльності ґрунтової мікрофлори є накопичення у ґрунті рухомих елементів живлення для рослин. Агрохімічні властивості досліджуваних ґрунтів, які визначали за ДСТУ ISO10390:1994, IDT. Якість ґрунту. Визначення pH; ДСТУ 4115-2002 Ґрунти. Визначення рухомих

сполук фосфору і калію за модифікованим методом Чирикова. ДСТУ 7863: 2015 Якість ґрунту. Визначення легкогідролізного азоту методом Корнфілда.

Агрохімічні показники перевіряли у фазу інтенсивного пагоноутворення та в кінці вегетації.

У фазу інтенсивного пагоноутворення вже було помітно підвищення рухомих форм Нітрогену, Фосфору та Калію у ґрунті за використання Стимпо і Регоплагту (рис.)



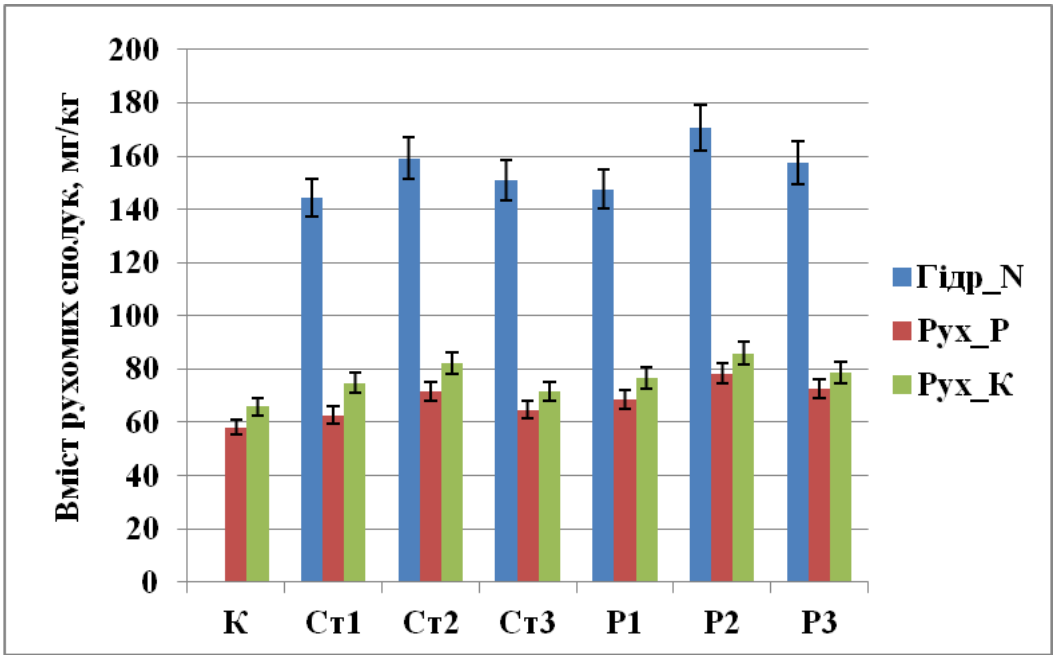
Агрохімічні показники грунту у фазі інтенсивного пагоноутворення рослин міскантусу за застосування регуляторів росту

(К – контроль, Стимпо, мл/л: С1 - 10, С2 - 25 та С3 - 50, Регоплант, мл/л: Р1 - 50, Р2 - 120 та Р3 – 250)

Так, у контролі вміст гідролізованого Нітрогену становив у контролі становив 120 мг/кг, в той час як за використання Стимпо і Регопланту цей показник коливався від 135,6 до 156,2 мг/кг. Аналогічно спостерігалось підвищення за вмістом рухомих сполук Фосфору та Калію в 1,13-1,42 рази. Найвищі показники спостерігали у варіантах із застосуванням Регопланту у концентрації 120 мл/л та Стимпо у концентрації 25 мл/л.

Згідно досліджень Barabasz W., Albińska D., Jaśkowska M., Lipiec J. (2002) найвищі врожаї міскантусу було отримано в комбінації CaNPK з повним мінеральним удобренням. Рослини міскантусу найменше реагують на дефіцит фосфору і підкислення ґрунту. Урожайність на ґрунті без підживлення фосфором і на кислому ґрунті (NPK) були лише приблизно на 6% нижчими, ніж у ґрунті з повним (CaNPK) удобренням.

Наприкінці вегетації також була позитивна тенденція щодо підвищення рухомих форм Нітрогену, Фосфору та Калію у ґрунті за використання Стимпо і Регоплагту (рис.).



Агрохімічні показники грунту наприкінці вегетації рослин міскантусу за застосування регуляторів росту

(К – контроль, Стимпо, мл/л: С1 - 10, С2 - 25 та С3 - 50, Регоплант, мл/л: Р1 - 50, Р2 - 120 та Р3 – 250)

За використання Стимпо у концентрації 25 мл/л і Регопланту у концентраціях 120 та 250 мл/л вміст гідролізованого Нітрогену становив становив 159,2 мг/кг, 170,5 мг/кг та 157,5 мг/кг відповідно, в той час як за інших концентрацій цей показник коливався від 144,3 до 151 мг/кг, а у контролі 129,7 мг/кг. Також спостерігалось підвищення за вмістом рухомих

сполук Фосфору та Калію – за використання РРР уміст сполук коливався від 62,7 до 85,9 мг/кг, а у контролі становив 58,2-65,9 мг/кг відповідно. Найвищі показники спостерігали у варіантах із застосуванням Регопланту у концентрації 120 мл/л та Стимпо у концентрації 25 мл/л.

Отже, застосування біостимуляторів вплинуло на мікробіологічну активність ґрунту, що сприяло підвищенню рухомих сполук NPK у ґрунті.

Рухомі сполуки NPK утворюються під дією ґрунтових мікроорганізмів, які розкладають органічні речовини, вони є джерелом NPK для тривалого живлення рослин, особливо для культур з тривалим вегетаційним періодом.

Застосування біопрепаратів сприяє активізації грунтової мікрофлори. Fei et al. (2017) дослідили, що *Gluconacetobacter* spp., спочатку виділені із *Saccharum officinarum* L. (цукрова тростина), продемонстрували значну N_2 фіксуючу активність у ряді культур (Fei et al. 2017). *G. diazotrophicus* PAL5T LsdB $^{++}$ підвищив вміст азоту в міскантусі сорту «Amuri» на 23%. Однак відомо, що *G. diazotrophicus* прискорює ріст рослин за допомогою безлічі механізмів, включаючи виробництво фітогормонів індол-3-оцтової кислоти, гібереліну A_3, а також активності розчинення фосфатів і цинку (Madhaiyan et al. 2006). *Variovorax paradoxus* JM63 було виділено з ризосферного ґрунту бобових рослин, де H_2 є побічним продуктом у процесі симбіотичної фіксації азоту в бульбочках бобових (Maimaiti et al. 2007). Ця H_2 -окислююча бактерія продемонструвала властивості стимулювання росту рослин шляхом збільшення подовження кореня шляхом зниження рівня етилену в рослині-хазяїні (Golding et al. 2012).

Harvey et al. (2009) дослідили *Penicillium bilaiae* (комерційний продукт: JumpStart ® , Acceleron BioAg), який може збільшити доступність поживних речовин для рослини шляхом виділення органічних кислот, які можуть подкисляти локалізовані ділянки ризосфери для мобілізації нерозчинного фосфату або діяти як хелатор катіонних партнерів фосфатного аніону (Kucey 1987). Крім того, було показано, що грибковий мікросимбіонт збільшує

утворення кореневих волосків (Gulden and Vessey 2000 ; Harvey et al. 2009). Ці механізми були пов'язані зі сприянням більшому засвоєнню поживних речовин, особливо фосфатів, що може призвести до швидшого появи сходів, ранньої всхожості, більшої стресостійкості.

Встановлено вплив на ріст і накопичення поживних речовин корисними ґрунтовими мікробами та рослинним біостимулятором (екстрактом морських водоростей *A. nodosum*) на двох сортах гігантського міскантусу, хоча ефекти відрізнялися залежно від обробки, сорту та росту. умови (теплиця проти поля). У тепличних випробуваннях три обробки (*G. diazotrophicus* PAL5T LsdB $^{++}$, *G. johannae* UAP-Cf-76 і *V. paradoxus* JM67) збільшили ріст «Amuri» до 24% порівняно з необробленими контрольними, тоді як дві різні обробки (*P. bilaiae* та екстракт морських водоростей *A. nodosum*) збільшили ріст «Nagara» до 11%. Ці різні відповіді чітко вказують на специфічний для сорту вплив біостимуляторів на ріст рослин.

В тепличних умовах у всіх випадках, коли спостерігався позитивний вплив обробки на суху масу пагонів, вміст поживних речовин у пагонах також збільшувався (за винятком Fe у «Amuri»).

Хоча механізми, що лежать в основі стимуляції корисними ґрунтовими мікробами та рослинними біостимуляторами росту пагонів в тепличних умовах, не ясні, видається, що вони опосередковуються способами дії, які призводять до збільшення поглинання рослинами поживних речовин.

Як багаторічні рослини міскантус можуть використовувати природні ресурси ґрунту в набагато більшій мірі, ніж однорічні. Крім того, ці рослини залишаються в полі до пізньої осені і навіть взимку, втрачають переважно частину утвореної біомаси листя, яке, впавши на поверхню в ґрунт, сприяє збільшенню кількості деяких поживних речовин

Результати досліджень інших авторів (Kalembasa і Malinowska 2007) вказують на те, що міскантус можна вирощувати на легких ґрунтах.

У «Амуросі» три обробки позитивно вплинули на накопичення біомаси пагонів. Обробка *G. diazotrophicus* PAL5T LsdB + *G. johannae* UAP-Cf-76 і V. paradoxus JM63 збільшила суху масу пагонів (DW) на 17%, 24% і 15% відповідно порівняно з необробленими контрольними рослинами. Цікаво відзначити, що ця обробка також значно збільшила ($p \leq 0,05$) вміст поживних речовин у більшості тестованих пагонів, за винятком калію та заліза (таблиця 2). Максимальний приріст поживних речовин при лікуванні порівняно з необробленим контролем становив 25% N *V. paradoxus* JM63; 20% P G. *johannae* UAP-Cf-76; 27% K *G. diazotrophicus* PAL5T LsdB + 32% V. paradoxus JM63; і 44% Zn у G. diazotrophicus PAL5T LsdB.

Отриманий ефект сильнішого впливу обробки РРР спостерігали на другий рік вегетації.

У дослідженнях Стефановської Т.Р. та ін. (2019) обробка різними РРР по-різному впливала на біологічні параметри *M* × *g*. Наприклад, якщо обробки Чаркором і Стимпо збільшили кількість стебел, обробка Регоплантом і Чаркором вплинули головним чином на довжину коренів.

Відомо, що біомаса в основному формується стеблами, коли *M. x giganteus* збирають навесні. Таким чином, збільшення біомаси є однією з цільових цілей, коли культура використовується на різних забруднених грунтах.

Отримані результати (рис.) показали, що величина сухої біомаси *M. x giganteus* була найвищою за використання Регопланту у концентрації 120 та 50 мг/л – 30,4 та 25,8 г/рослину, до цих варіанів наближався Стимпо у концентрації 25 мг/л – 25,6 г/рослину. Урашти варіантів цей показник коливався від 18,4 до 20,1 г/рослину. У контролі він становив 15,4 г/рослину.

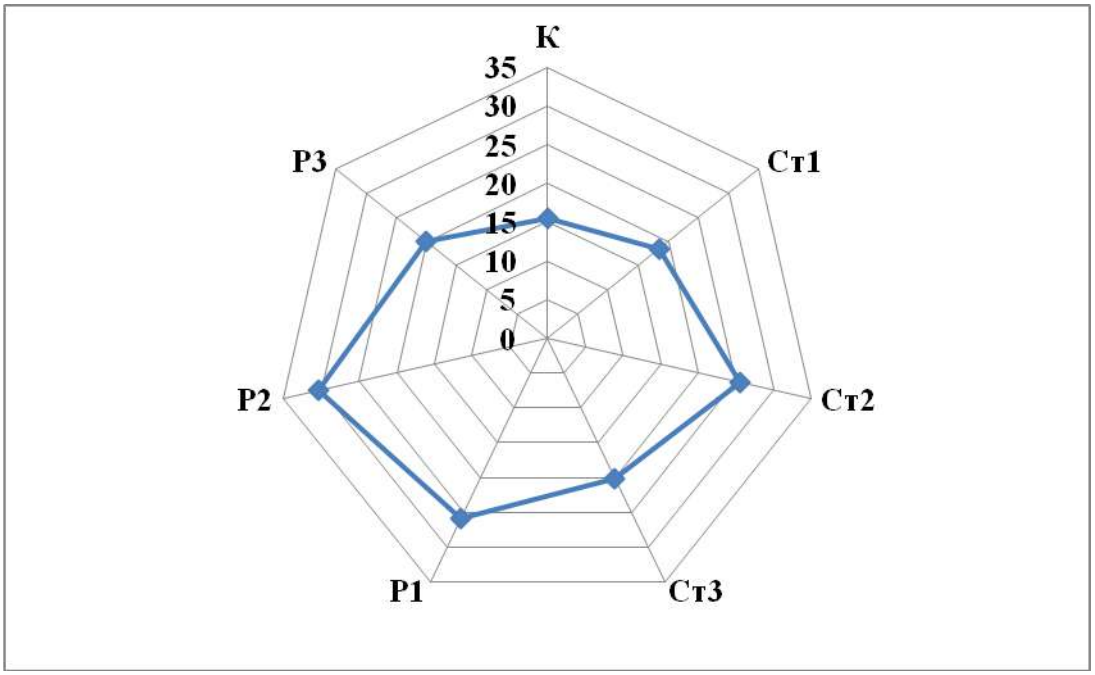


Рис. . Суха біомаса пагонів *M. x giganteus* за дії регуляторів росту рослин (К – контроль, Стимпо, мл/л: С1 - 10, С2 - 25 та С3 - 50, Регоплант, мл/л: Р1 - 50, Р2 - 120 та Р3 – 250)

M × *g* має високу ефективність використання поживних речовин і може рости з невеликим внесенням азоту або без нього (Cadoux et al. 2012), повідомляється, що утворення сухої речовини загалом збільшується при нормі внесення азоту до 120 кг азоту, га -1 рік -1 (Arundale та ін. 2014; Лі та ін. 2017). Незважаючи на те, що виробництво *M* × *g* з низьким вмістом азоту було економічно доцільним, виробництво сухої речовини позитивно відреагувало (до 50 мг га −1 рік −1 у встановлених, зрілих насадженнях) із збільшенням удобрення азотом (Tubeileh et al. 2015). Марсал та ін. (2016) повідомили, що врожайність *M* × *g* зросла з 13,2 до 23,8 мг га -1 у відповідь на внесення азотних добрив (75–42–62 кг га -1 відповідно) на маргінальних землях у південному Онтаріо.

У сорту міскантусу «Nagar» обробка *P. bilaiae* та екстрактом морських водоростей збільшила DW пагонів на 11% і 10% відповідно порівняно з необробленим контролем. Подібно до того, що спостерігалося в «Амурі», дві

обробки, які мали позитивний вплив на накопичення біомаси, також спричинили значне збільшення ($p \leq 0,05$) вмісту всіх поживних речовин у пагонах. Максимальне збільшення вмісту поживних речовин спостерігалося при обробці екстрактом морських водоростей і становило 25% N; 39% P; 28% K; 24% Ca; 29% Mg; 29% Fe; і 24% Zn.

Таким чином, застосування біостимуляторів Регоплант і Стимпо є ефективним у підвищення мікробіологічної активності грунту, рухомих сполук NPK та біомаси рослин.

Особливістю вмісту Регопланту, як найбільш ефективного варіанту є вмст у його складі, окрім комплексу біологічно-активних сполук - продукти життєдіяльності грибів-мікроміцетів (насичені і ненасичені жирні кислоти (C14-C28), полісахариди, 15 амінокислот, аналоги фітогормонів цитокінінової та ауксинової природи), аверсектину С - продукт життєдіяльності актиноміцету *Streptomyces avermytilis.,* комплексу біогенних мікроелементів, калієвої солі альфа-нафтилоцтової кислоти. Під впливом її коренева система міскантусу збільшує виділення органічних кислот, амінокислот і цукрів у ризосферу. В свою чергу, вони слугують джерелом живлення для мікроорганізмів, зокрема бактерій та грибів.

Однією зі стратегій інтенсифікації енергетичних культур відповідно до концепції Європейської зеленої угоди є введення на поля більшої кількості природних сполук, таких як рослинні біостимулятори та речовини, щоб покращити умови ґрунту як для харчових, так і для енергетичних культур.

Комплекс біологічно активних сполук стимулює розвиток коренів та покращує взаємодію з мікробі отою, що сприяє підвищенню доступності фосфору, азоту та мікроелементів для рослин. PPP можуть опосередковано сприяти росту антагоністичних мікроорганізмів (наприклад, Bacillus sp. або Trichoderma sp.), які пригнічують патогенні бактерії та гриби.

Рис. Складові РРР Стимпо та Регопланту, як чинники ефективності

Також за проведеними дослідженнями інших авторів під впливом регуляторів росту покращується структура ґрунту та його вологоутримуючі властивості, що також сприяє розвитку ґрунтових мікроорганізмів, покращуються процеси мінералізації органічної речовини.

ВИСНОВКИ

1. Кількість сапрофітних бактерій за використання Стимпо і Регопланту перевищувала контрольний варіант. За використання Регопланту у концентрації 120мл/л- вона становила 23,2 млн КУО/г. У варіанті з Стимпо (25 мл/л) також вона також була високою – 22,8 млн КУО/г. У контрольному варіанті - становила 12,9 млн КУО/г.

2. Кількість мікроорганізмів, що споживають мінеральний азот (NH_3), була також вище порівняно з контролем у варіантах із застосуванням регуляторів росту. За використання Регопланту у концентрації 120мл/л та Стимпо (25 мл/л) вона становила 39,2 та 30,2 млн КУО/г. Решта варіантів коливалась у межах 20,6-25,3 млн КУО/г.

3. Обробка Регоплантом у концентрації 120 мл/л та Стимпо у концентрації 25 мл/л сприяла збільшенню чисельності олігонітрофілів на 19-19,9%, що свідчить про покращення мікробіологічної активності ґрунту.

4. Регулятори росту рослин Стимпо і Регоплнт стимулюють секрецію кореневих ексудатів, а саме вміст цукрів, амінокислот та органічних кислот у ризосфері збільшується. Таким чином створюється сприятливе середовище для розвитку олігонітрофілів.

5. Чисельність сапротрофних грибів у ризосфері міскантусу під впливом регуляторів росту рослин зростала, у контролі їх чисельність становила 23,1 тис. КУО/г, за використання Регопланту у концентрації 120 мл/л – 44,7 тис. КУО/г, у решти варіантів цей показник становив 39,1- 35,4 тис. КУО/г. Серед сапротрофних грибів спостерігали роди *Penicillium, Mucor, Gliocladium, Cladosporium* та *Trichoderma.*

6. Коефіцієнт мінералізації та іммобілізації азоту, який свідчить про інтенсивну мінералізацію органічної речовини в ґрунті, мав найвище значення (1,69 та 1,63) були характерні за використання Регопланту у концентрації 120

мл/л та 50 мл/л відповідно. Це свідчить про доступність форм Нітрогену, оскільки мікроорганізми активніше розкладають органічні речовини.

7. Індекс Шенону для загальної чисельності бактерій та грибів за використання Регопланту у концентрації 120 мл/л становив 2,23 та 1,69 відповідно, а Стимпо у у концентрації 25 мл/л – 2,15 та 1,6 відповідно. У контролі ці показники становили 1,87 та 1,32 відповідно. Біостимулятори стимулюють розвиток різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів, що призводить до збільшення значення індексу Шеннона, оскільки кількість видів збільшується, а їхня чисельність вирівнюється. Аналогічно в позитивному напрямку варіювався і індекс Симпсона.

8. Вміст гідролізованого Нітрогену, рухомих сполук Фосфору та Калію підвищувався у грунті 1,13-1,42 рази. Найвищі показники спостерігали у варіантах із застосуванням Регопланту у концентрації 120 мл/л та Стимпо у концентрації 25 мл/л.

9. Величина сухої біомаси *M. x giganteus* була найвищою за використання Регопланту у концентрації 120 та 50 мг/л – 30,4 та 25,8 г/рослину, до цих варіанів наближався Стимпо у концентрації 25 мг/л – 25,6 г/рослину. У решти варіантів цей показник коливався від 18,4 до 20,1 г/рослину. У контролі він становив 15,4 г/рослину.

Таким чином, застосування біостимуляторів Регоплант і Стимпо є ефективним у підвищення мікробіологічної активності грунту, рухомих сполук NPK та біомаси рослин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Гудзь С., Гнатуш С., Білінська І. Практикум з мікробіології. Ч. 1. Навчальний посібник. Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2003. 80 с.

2. ДСТУ ISO10390:1994, IDT Якість ґрунту. Визначення pH.

3. ДСТУ 4115-2002 Ґрунти. Визначення рухомих сполук фосфору і калію за модифікованим методом Чирикова.

4. ДСТУ 7863:2015 Якість ґрунту. Визначення легкогідролізного азоту методом Корнфілда.

5. Міскантус в Україні: К.: ТОВ «ЦП «Компрінт», 2019.256 с.

6. Патент на винахід № 104260 Україна, МПК (2014), C12R 1/645, C12N 1/14. Штам мікроміцету *Cylindrocarpon obtusiuscuilum* IMB F-100061 для отримання регуляторів росту рослин з біозахисним ефектом / С.П. Пономаренко; заявник та власник С.П. Пономаренко. – № заявки a 2013 03038; заявл. 12.03.2013; опубл. 10.01.2014, Бюл. № 1.

7. ТУ У 20.2-31168762-005:2012. Регулятор росту рослин «Стимпо». Технічні умови України, 2002.

8. ТУ У 20.2-31168762-006:2012 Регулятор росту рослин «Регоплант». Технічні умови України, 2012.

9. Barabasz W., Albińska D., Jaśkowska M., Lipiec J. (2002): Biological effects of mineral nitrogen fertilization on soil microorganisms. Polish Journal of Environmental Studies, 11: 193-198.

10. Bourgeois, E., Dequiedt, S., Lelièvre, M. et al. Miscanthus bioenergy crop stimulates nutrient-cycler bacteria and fungi in wastewater-contaminated agricultural soil. Environ Chem Lett 13, 503–511 (2015). https://doi.org/10.1007/s10311-015-0532-4

11. Bunt Y.S., Rovira A.D. (1955): Microbiological studies of some subartactic soils. Journal of Soil Sciences, 6: 119-128.

12. Burner, D.M., Hale, A.L., Carver, P., Pote, D.H., and Fritschi, F.B. 2015. Biomass yield comparisons of giant miscanthus, giant reed, and miscane grown under irrigated and rainfed conditions. Ind. Crops Prod. 76: 1025–1032.

13. Chou C.H. (2009): Miscanthus plants used as an alternative biofuel material: The basic studies on ecology and molecular evolution. Renewable Energy, 34: 1908-1912.

14. Chum H.L., Overend R.P. (2001): Biomass and renewable fuels. Fuel Processing Technology, 71: 187-190.

15. Demirbas A. (2004): Combustion characteristics of different biomass fuels. Progress in Energy and Combustion Science, 30: 219-230.

16. Deuter M., Jeżowski S. (2002): State of the knowledge about breeding of gigantic grass from the genus Miscanthus. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 2: 59-63. (In Polish)

17. Dobereiner J. (1961): Nitrogen-fixing bacteria of the genus Beijerinckia Derx in the rhizosphere of sugar cane. Plant and Soil, 15: 211-216.

18. Ercoli L., Mariotti M., Masoni A., Bonari E. (1999): Effect of irrigation and nitrogen fertilization on biomass yield and efficiency of Miscanthus. Field Crops Research, 63: 3-11.

19. Faber A., Stasiak M., Kuś J. (2007): Preliminary estimation of the productivity of chosen species of energy plants. Postępy w Ochronie Roślin, 47: 339-346. (In Polish)

20. Fadiji, A.E.; Babalola, O.O.; Santoyo, G.; Perazzolli, M. The Potential Role of Microbial Biostimulants in the Amelioration of Climate Change-Associated Abiotic Stresses on Crops. *Front. Microbiol.* 2022, *12*, 829099.

21. Ferrari, G.; Pezzuolo, A.; Nizami, A.-S.; Marinello, F. Bibliometric analysis of trends in biomass for bioenergy research. Energies 2020, 13, 3714.

22. Filipek T., Gonet Sł., Kucharski J., Mocek A. (2000): More important units of measures and symbols applied in the soil sciences. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 472: 731-739.

23. Fotyma M., Gosek S., Strączyk D. (2005): New approach to calibration of the Egner-Riehm (DL) soil test for available P and K. Fertilizers and Fertilization, 3: 111-123.

24. Glynn, E. & Brennan, J. & Walsh, E. & Feechan, Angela & Mcdonnell, Kevin. (2014). The potential of Miscanthus to harbour known cereal pathogens. European Journal of Plant Pathology. 141. 10.1007/s10658-014-0519-1.

25. Hromádko L., Vranová V., Techer D., Laval-Gilly P., Rejšek K., Formánek P., Falla J. (2010): Composition of root exudates of Miscanthus × Giganteus Greef et Deu. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculture Mendelianea Brunensis, 58: 71-76.

26. Hudson, A.O.; Ahmad, N.H.; Van Buren, R.; Savka, M.A. Sugarcane and Grapevine Endophytic Bacteria: Isolation, Detection of Quorum Sensing Signals and Identification by 16S v3 rDNA Sequence Analysis. In *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*; Formatex Research Center: Badajoz, Spain, 2011; pp. 801–806.

27. Jańczak-Pieniążek M, Pikuła W, Pawlak R, Drygaś B, Szpunar-Krok E. Physiological Response of *Miscanthus sinensis* (Anderss.) to Biostimulants. *Agriculture*. 2024; 14(1):33. https://doi.org/10.3390/agriculture14010033

28. Jeżowski S. (1999): Miscanthus grass (Miscanthus sinensis) - source of renewable and ecological raw materials for Poland. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 468: 159-166. (In Polish)

29. Kahle P., Beuch S., Boelcke B., Leinweber P., Schulten H.R. (2001): Cropping of Miscanthus in Central Europe: Biomass production and influence on nutrients and soil organic matter. European Journal of Agronomy, 15: 171-184.

30. Kalembasa D., Malinowska E. (2007): Effect of doses of sewage sludge on yield and chemical composition of Miscanthus sacchariflorus in the field experiment. Fragmenta Agronomica, 1: 113-118. (In Polish)

31. Káňová H., Carre J., Vranová V., Rejšek K., Formánek P. (2010): Organic compounds in root exudates of Miscanthus × Giganteus Greef et Deu and limitation of microorganisms in its rhizosphere by nutrients. Acta Universitatis Agriculturae and Silviculture Mendelianea Brunensis, 23: 203-208.

32. Khanna, M., Chen, L., Basso, B., Cai, X., Field, J. L., Guan, K., ... & Zipp, K. Y. (2021). Redefining marginal land for bioenergy crop production. *Gcb Bioenergy*, *13*(10), 1590-1609.

33. Koubek, J.; Uhlík, O.; Ječná, K.; Junková, P.; Vrkoslavová, J.; Lipov, J.; Kurzawová, V.; Macek, T.; Macková, M. Whole-cell MALDI-TOF: Rapid screening method in environmental microbiology. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2012, *69*, 82–86.

34. Lazcano C., Gómez-Brandón M., Revilla P., Domínguez J. (2013): Short-term effects of organic and inorganic fertilizers on soil microbial community structure and function. A field study with sweet corn. Biology and Fertility of Soils, 49: 723-733.

35. Lewandowski, I., Clifton-Brown, J.C., Scurlock, J.M.O., and Huisman, W. 2000. Miscanthus: European experience with a novel energy crop. Biomass Bioenergy, 19: 209–227.

36. Li, H.; Sharma, V.K.; Newcombe, G.; BarbosaTrivella, D.B.; Soni, R. Biotechnology application of bacterial endophytes in ariculture, environment and industry. *Front. Microbiol.* **2023**, *17*, 1269279.

37. Li, W., Ciais, P., Stehfest, E., van Vuuren, D., Popp, A., Arneth, A., ... & Liu, W. (2020). Mapping the yields of lignocellulosic bioenergy crops from observations at the global scale. *Earth System Science Data*, *12*(2), 789-804.

38. Li, Z.; Chang, S.; Lin, L.; Li, Y.; An, Q. A colorimetric assay of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) based on ninhydrin reaction for rapid screening of bacteria containing ACC deaminase. *Lett. Appl. Microbiol.* **2011**, *53*, 178–185.

39. Medkov A. I., Stefanovska T. R., Borodai V. V. (2021). Optimization of the Micromycete Cultivation Process –Basics of Growth Regulators and Biotesting

Their Growth-Stimulating Activity Concerning to Miscanthus Giganteus. Agrology, 4(1), 40–46 doi: 10.32819/021005.

40. Nebeská, D., Pidlisnyuk, V., Stefanovska, T., Trögl, J., Shapoval, P., Popelka, J., Černý, J., Medkow, A., Kvak, V. & Malinská, H. (2019). Impact of plant growth regulators and soil properties on Miscanthus x giganteus biomass parameters and uptake of metals in military soils. Reviews on Environmental Health, 34(3), 283-291. https://doi.org/10.1515/reveh-2018-0088

41. Nie, G., Zhong, M., Cai, J.; Yang, X.; Zhou, J.; Appiah, C.; Tang, M.; Wang, X.; Feng, G.; Huang, L.; et al. Transcriptome characterization of candidate genes related to chromium uptake, transport and accumulation in *Miscanthus sinensis*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2021**, *221*, 112445.

42. Núñez-Regueiro, M.M.; Siddiqui, S.F.; Fletcher, R.J., Jr. Effects of bioenergy on biodiversity arising from land-use change and crop type. *Conserv. Biol.* **2019**, *35*, 77–87.

43. Ouattara, M.S.; Laurent, A.; Berthou, M.; Borujerdi, E.; Butier, A.; Malvoisin, P.; Romelot, D.; Loyce, C. Identifying Factors Explaining Yield Variability of *Miscanthus x giganteus* and *Miscanthus sinensis* Across Contrasting Environments: Use of an Agronomic Diagnosis Approach. *Bioenergy Res.* **2022**, *15*, 672–685.

44. Peroni, P., Liu, Q., Lizarazu, W. Z., Xue, S., Yi, Z., Von Cossel, M., Mastroberardino, R., Papazoglou, E. G., Monti, A., & Iqbal, Y. (2024). Biostimulant and Arbuscular Mycorrhizae Application on Four Major Biomass Crops as the Base of Phytomanagement Strategies in Metal-Contaminated Soils. *Plants (Basel, Switzerland)*, *13*(13), 1866. https://doi.org/10.3390/plants13131866

45. Pidlisnyuk V, Stefanovska T, Zhukov O, Medkow A, Shapoval P, Stadnik V, Sozanskyi M. Impact of Plant Growth Regulators to Development of the Second Generation Energy Crop Miscanthus × giganteus Produced Two Years in Marginal Post-Military Soil. Applied Sciences. 2022; 12(2):881. https://doi.org/10.3390/app12020881

46. Reed, M.L.E.; Glick, B.R. Applications of plant growth-promoting bacteria for plant and soil systems. In *Application of Microbial Engineering*; Editor Gupta, V.K., Schmoll, M., Mazutti, M.A., Maki, M., Tuohy, M.G., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2013; pp. 181–228.

47. Schmidt, C.S.; Mrnka, L.; Frantík, T.; Lovecká, P.; Vosádka, M. Plant growth promotion of *Miscanthus* × *giganteus* by endophytic bacteria and fungi on non-polluted and polluted soils. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2018**, *13*, 48.

48. Schmidt-Walter, Paul. (2012). Biomass Production with Willow and Poplar Short Rotation Coppices on Sensitive Areas—the Impact on Nitrate Leaching and Groundwater Recharge in a Drinking Water Catchment near Hanover, Germany. BioEnergy Research. 3. 1-17. 10.1007/s12155-012-9237-8.

49. Stefanovska, Tatyana & Skwiercz, Andrzej & Pidlisnyuk, Valentina & Boroday, Vira & Medkow, Artem & Zhukov, Olexander. (2024). Effect of the Biostimulants of Microbiological Origin on the Entomopathogenic and Plant Parasitic Nematodes from Miscanthus × Giganteus Plantations. Journal of Horticultural Research. 10.2478/johr-2024-0003

50. Técher D., Laval-Gilly P., Henry S., Bennasroune A., Formanek P., Martinez-Chois C., D'Innocenzo M., Muanda F., Dicko A., Rejšek K., Falla J. (2011): Contribution of Miscanthus × giganteus root exudates to the biostimulation of PAH degradation: An in vitro study. Science of the Total Environment, 409: 4489-4495.

51. Tsygankova, V., Andrusevych, Y., Babayants, O., Ponomarenko, S., Medkov, A., Galkin, A. (2013).Increase of plant immune properties against pathogenic fungi, pests and nematodes by using PGRs. *Physiology and Biochemistry of the Cultivation Plants*.45 (2), 30-35.

52. Tsygankova, V.A.; Andrusevych, Y.V.; Babayants, Y.V.; Ponomarenko, S.P.; Medkow, A.I.; Galkin, A.P. Stimulation of plant immune protection againstpathogenic fungi, pests and nematodes with growth regulators. *Physiol. Biochem. Cultiv. Plants* 2013, 45, 138–147 DOI:10.13140/2.1.2606.9446

53. Urška Zadel, Catarina Cruzeiro, Abilash Chakravarthy Raj Durai, Joseph Nesme, Robert May, Helga Balázs, Bernhard Michalke, Grażyna Płaza, Peter Schröder, Michael Schloter, Viviane Radl. Exudates from Miscanthus x giganteus change the response of a root-associated Pseudomonas putida strain towards heavy metals. Environmental Pollution, Volume 313, 2022, 119989, https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119989.