

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.07 – МКР. 1988 «С». 2023.11.01 29 ПЗ

ОМЕЛЬЧЕНКО ВОЛОДИМИР ОЛЕКСАНДРОВИЧ

2024

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет (ННІ) Факультет захисту рослин біотехнології та екології

УДК 606:632.95:57.08:633

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету (Директор ННІ)
захисту рослин, біотехнологій та екології
(назва факультету (ННІ))

_____ Коломієць Ю.В. _____
(підпис) (ПІБ)

“ ___ ” _____ 2024 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри
фізіології, біохімії рослин та біоенергетики
(назва кафедри)

_____ Прилуцька С.В. _____
(підпис) (ПІБ)

“ ___ ” _____ 2024 р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему Перспективні шляхи використання біогербіцидів у рослинництві України

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

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»
(назва)

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

Гарант освітньої програми

д.с.-г.н., професор _____ Лісовий М.М. _____
(науковий ступінь та вчене звання) (підпис) (ПІБ)

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

к.с.-г.н. і доцент _____ Нестерова Н.Г. _____
(науковий ступінь та вчене звання) (підпис) (ПІБ)

Виконав

_____ Омельченко В.О. _____
(підпис) (ПІБ студента)

КИЇВ – 2024

3. Дослідження впливу біогербіциду Камперіко та хімічного гербіциду Зенкор ЛКВІД на активність каталази та пероксидази метлюга звичайного.

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Нестерова Н.Г.		
2	Нестерова Н.Г.		
3	Нестерова Н.Г.		

6. Дата видачі завдання 1 вересня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної бакалаврської роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Дослідження впливу біогербіциду Камперіко та хімічного гербіциду Зенкор ЛКВІД на морфометричні показники та метлюга звичайного.	2023-2024 р.	
2	Дослідження впливу біогербіциду Камперіко та хімічного гербіциду Зенкор ЛКВІД на активність каталази та пероксидази метлюга звичайного	2023-2024 р.	
3	Огляд літературних джерел щодо перспективних технологій в сфері біогербіцидів.	2023-2024 р.	

Студент

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Омельченко В.О.

Керівник роботи

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Нестерова Н.Г.

Реферат

Дипломна робота на тему «Перспективні шляхи використання біогербіцидів у рослинництві України» виконана на 59 сторінках, містить 3 розділи, 1 рисунок, 4 таблиць, 49 використаних джерел.

Мета роботи - Визначити вплив біогербіциду Камперіко та порівняти його з хімічним гербіцидом Зенкор ЛКВІД , та ознайомитися з перспективними технологіями виробництва, формуляції, аплікації біогербіцидів.

Об'єкти дослідження:

- 1) Модельні рослини родини Тонконогові – метлюг звичайний (*Apera spica-venti*)
- 2) Розчин біогербіциду Камперіко (Японія)
- 3) Гербіцид суцільної дії Зенкор ЛКВІД (д.р. метрибузин)

Використання біогербіциду Камперіко є високоефективним способом боротьби з бур'яном *Apera spica-venti*, та дозволяє боротися з шкідником не приносячи шкоди іншим рослинам, екосистемі, ґрунту, та теплокровним тваринам. Використання біогербіциду призводить до морфологічних змін, що призводить до смерті або зменшеної життєдіяльності бур'яну.

ЗМІСТ

ЗМІСТ	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
Формулювання біогербіциду	8
Огляд біогербіцидів	10
Біогербіциди на твердій основі.....	15
Біогербіциди на основі водної суспензії.....	19
Біогербіциди на основі водної емульсії.....	21
Біогербіциди на основі наночастинок з ефірними оліями.....	25
Біогербіциди на основі рослинних вірусів	36
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	46
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	48
3.1 Морфометричні показники рослин <i>Apera spica-venti</i> за дії біогербіциду Камперіко та гербіциду Зенкор ЛІКВІД.....	48
3.2. Активність окисно-відновних ферментів пероксидази і каталази на рослини <i>Apera spica-venti</i> за дії біогербіциду Камперіко та гербіциду Зенкор ЛІКВІД.....	51
ВИСНОВКИ.....	54
Список використаної літератури	55

ВСТУП

Ефективний захист рослин є одним з найважливіших питань аграрного сектору України. На сьогоднішній день аграрний сектор переважно залежить від імпорту хімічних засобів захисту рослин з інших країн. Імпорт [1] пестицидів до України у натуральних показниках (тоннах) за період з листопада 2017 р. по жовтень 2018 р. становив 96932,7 т пестицидів на суму 25254,5 млн грн (біля 1 млрд доларів США). Експорт пестицидів з України у натуральних показниках (тоннах) за період з листопада 2017 р. по жовтень 2018 р. склав 1042,3 т пестицидів на суму 530,4 млн грн (біля 20 млн доларів США). Тобто експорт пестицидів з України у грошовому вимірі менший за імпорт більш, ніж у 47 разів! Використання дорогих, екологічно небезпечних хімічних засобів рослин, які спонукають залежність від інших країн не є оптимальним станом речей.

На жаль, на сьогодні не розповсюджене використання біологічних засобів захисту рослин, які є більш екологічними, мають прицільну дію, та допомагають в вирощуванні кращої сировини. Це зв'язано з новизною біологічних ЗЗР та недостатнім спектром вибору продукції.

Не зважаючи на це, ринок біологічних препаратів стрімко росте. Однією тенденцією розвитку сучасного ринку захисту рослин є збільшення обсягу продажу біопестицидів. Так, у 2012 р. [2] світовий ринок біопестицидів оцінювався на рівні 2 млрд. дол. США. У 2020 році обсяги продажу біопрепаратів зростуть до 5 млрд дол. США.

Метою цієї роботи є глибокий аналіз напрямків розвитку сфери біогербіцидів, що дозволить побачити перспективні технології, методи, сполуки, та мікроорганізми, що можуть бути використані.

Завданням цієї роботи є пришвидшення темпів впровадження та використання біологічних ЗЗР задля збереження довкілля, покращення рівня продукції, та збереження коштів.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Формулювання біогербіциду

Бур'яни спричиняють серйозні економічні збитки для сільського господарства та загрожують нашим глобальним запасам їжі. Ці ризики в першу чергу зменшуються застосуванням хімічних гербіцидів. На жаль, неправильне використання гербіцидів завдає шкоди навколишньому середовищу та людям. Використання біологічних гербіцидів дозволяє зменшити ризики довкілля. Переваги біогербіцидів [3] включають короткочасну долю в навколишньому середовищі, різноманітні механізми дії, що зменшують ризик стійкості до гербіцидів, і низьку токсичність. Оскільки досвід у розробці біогербіцидів зростає, на ринку з'являється більше продуктів, що полегшує їх впровадження та стимулює циклічний розвиток, створюючи таким чином шлях для того, щоб біогербіциди стали лідерами в ринку гербіцидів в майбутньому.

Формулювання біогербіциду [4] в ідеалі має призвести до продукту, який має низьку вартість, тривалий термін зберігання, легкість застосування та ефективність. Формулювання залишається обмеженням для комерційного розвитку багатьох потенційних біогербіцидів, часто тому, що залежність грибів від роси обмежує їхню ефективність в умовах посушливих земель. Це не було проблемою з кількома комерційними біогербіцидами, оскільки вони використовуються в зрошувальних системах або застосовуються як інокулянти ран. Таким чином, зменшення залежності від роси є основною метою при розробці багатьох потенційних біогербіцидів.

Формули біогербіцидів містять активний інгредієнт (спори або вторинні метаболіти), носій (в основному інертний матеріал) і ад'юванти, які можуть містити такі сполуки, як поживні речовини та/або хімікати, які сприяють виживанню патогену або допомагають захистити активний інгредієнт від несприятливих впливів. умови навколишнього середовища (Hynes and Boyechko, 2006). Ад'юванти також можуть сприяти зараженню хазяїна.

Обмеження у розробці біогербіцидів можна класифікувати як біологічні, екологічні, технологічні або комерційні. Біологічні обмеження, включаючи мінливість і резистентність бур'янів, зазвичай розпізнаються на ранній стадії проекту, і, якщо вони значні, можуть призвести до припинення досліджень. Обмеження навколишнього середовища, включаючи температуру та, зокрема, вологість, визнано основними факторами, що впливають на ефективність біогербіцидів. Технологічні обмеження, включаючи масове виробництво та рецептуру, часто блокували розробку біогербіцидів, оскільки саме тут потрібні навички поза звичайною сферою дослідження бур'янів та фітопатологів. Альтернативні витрати на спеціалістів із розробки та ферментації біологічних препаратів відносно високі, і великі транснаціональні компанії неохоче приділяли цим вченим багато часу на розробку біогербіцидів. Частково це пов'язано з розміром ринку більшості потенційних біогербіцидів. Як специфічні патогени певних видів рослин, біогербіцидні продукти обмежені одним бур'яном і, отже, обмеженим ринком.

Вимога тривалого періоду високої вологості або вологості листя («період роси») для максимального зараження більшістю хвороботворних мікроорганізмів рослин обмежила використання комерційних біогербіцидів зрошувальними системами при застосуванні у вигляді повітряного розпилення. Інші комерційні продукти застосовуються як інокулянти ран. Інокуляція ран безпосередньо на рослинах долає декілька бар'єрів для інфекції та забезпечує вологе середовище для розвитку хвороби. Крім того, інокуляційні матеріали можуть бути простими суспензіями на основі води або агару, які вимагають невеликої складності у рецептурі. Це залишається перевіреним і комерційно дієздатним варіантом за деяких обставин.

Задовільний склад будь-якого продукту ідеально має тривалий термін придатності, відносну легкість застосування, ефективність і низьку вартість. Оскільки біогербіциди містять живі мікроорганізми, завдання рецептури є делікатним. Проте багато грибів перед використанням можна зберігати у

висушеному вигляді 1–2 роки. Таким чином, концепція виробництва інокулята в рідкому або твердому субстраті, його висушування та використання в подальшому як «формульований» матеріал для застосування є привабливою.

Огляд біогербіцидів

Пестицид [5] — це загальна назва речовин, які спрямовані на знищення, контроль та/або пригнічення небажаних організмів і можуть бути класифіковані як гербіциди, фунгіциди та інсектициди відповідно до цільових груп організмів, тобто бур'янів, грибів та комах відповідно. Біопестициди з'явилися як життєздатна альтернатива хімічним пестицидам для вирішення проблем, спричинених хімічними аналогами. Подібно до класифікації хімічних пестицидів, біопестициди можна класифікувати на біогербіциди, біофунгіциди та біоінсектициди.

Через високі витрати, пов'язані з відкриттям і виробництвом хімічних гербіцидів, великі компанії зосередилися на їх виробництві для використання у вирощуванні сільськогосподарської продукції у великих масштабах. Це дозволило розробити гербіциди для ринкових ніш, які вважаються незначними, наприклад для виробництва органічних продуктів харчування (Charudattan, 2001). Використання біогербіцидів сумісно з філософією органічної їжі, якщо не було генетичної модифікації та будь-які носії чи ад'юванти є природними продуктами з вузьким діапазоном господарів (Roskopf and Koenig, 2003).

Близько 50% біогербіцидів використовується на садових деревах і культурах, 30% – на випасах, а решта 12% – на польових культурах (Glare та ін., 2012). Що стосується площі землі, призначеної для вирощування органічних продуктів харчування, то в багатьох західних країнах щорічно зростає на 20% (Bruinsma та ін., 2003). Це зростання триватиме протягом тривалого періоду через постійний попит на органічні продукти харчування та субсидії на ферми, які надаються урядами (Bruinsma та ін., 2003; Roskopf and Koenig, 2003). Використання біогербіцидів допомагає мінімізувати потенційний вплив на навколишнє середовище. Це відкриває нові можливості для вивчення; крім того,

ринок біогербіцидів може бути більшим, ніж ринок синтетичних гербіцидів через зростаючу глобалізацію органічних продуктів харчування (Clarke та ін., 2008; Аш, 2010; Глер та ін., 2012).

Існують дві [5] стратегії, за допомогою яких мікробні агенти часто використовують для біологічного контролю бур'янів: класичний і залівний підходи. Класичний біологічний контроль характеризується завезенням, впровадженням і вивільненням природного ворога з того самого географічного походження бур'яну в зону, де бур'ян є проблемним. Після вивільнення природному ворогу (інсекторному грибкувому патогену) дозволяється самозбереження, виживання та встановлення, таким чином забезпечуючи довготривалий контроль бур'янів протягом кількох років (Boyetchko та ін., 2002). Класичний біологічний контроль часто є більш доречним на пасовищах, де порушення ділянки є мінімальним.

Залівний підхід також відомий як біогербіцидний підхід (Boyetchko та ін., 2002). Біогербіцид визначається як збудник хвороби рослин, який використовується як агент боротьби з бур'янами шляхом залівного та повторного застосування його інокулята (Charudattan and Dinoor, 2000). Патогени часто є місцевими, масово вирощуються штучно та застосовуються протягом вегетаційного періоду. Боротьба з бур'янами є короткостроковою порівняно з класичними засобами біоконтролю, і не очікується, що мікроби залишаться в навколишньому середовищі. Більшість мікробів, які використовуються як біогербіциди, є переважно грибкувими патогенами, у той час як зростає кількість прикладів бактеріальних агентів, що застосовуються в листі та ґрунті, які також досліджуються та розробляються як біогербіциди (Bailey та ін., 2011a).

Найбільш цитованим родом у наукових дослідженнях біогербіцидів був *Colletotrichum sp.* (30%). Наступними найбільш цитованими родами є *Fusarium sp.* (15%) і *Phoma sp.* (15%). Однак існує велика різноманітність мікроорганізмів, які можна використовувати для біологічного контролю, тому в 40% досліджень

використовували кілька інших видів мікроорганізмів. Це різноманіття мікроорганізмів показує, що існує великий біотехнологічний потенціал, який необхідно дослідити, що характеризує перспективну область досліджень.

Перше задокументоване навмисне використання гриба для класичного біоконтролю бур'янів відбулося в 1971 році, коли *Russinia chondrillina* була завезена в Австралію для боротьби з *Chondrilla juncea* (Barton, 2004). Вже першим зареєстрованим біогербіцидом у Сполучених Штатах був DeVine®, рідка композиція, що складається з хламідоспор ґрунтового гриба *P. palmivora* для боротьби з душною лозою (*Morrenia odorata*) у цитрусових (Boyetchko et al., 2002). Цей продукт, який забезпечує послідовний контроль над бур'янами понад 90%, який може зберігатися протягом принаймні 2 років, рекомендований для використання в садах і садах (Li et al., 2003). Першим зареєстрованим біогербіцидом у Канаді був BioMal®, продукт, що містить спори *S. gloeosporioides* f. sp. *malvae* для боротьби з мальвою круглолистою (*Malva pusilla*) (Boyetchko et al., 2002); однак невеликий розмір ринку та технічні труднощі, пов'язані з масовим виробництвом, були двома основними факторами, які стримували комерціалізацію продукту (Boyetchko та ін., 2002; Лі та ін., 2003; Аш, 2010).

Кількість грибів як агентів боротьби з бур'янами значніша порівняно з кількістю бактерій (Boyetchko et al., 2002), хоча є багато бактерій, які використовуються як біогербіциди, наприклад, *Bacillus* (Bettiol et al., 2012). Більшість бактерій зі здатністю виробляти токсини є грамнегативними бактеріями, такими як *Pseudomonas*, *Erwinia* і *Xanthomonas*, але є кілька грампозитивних бактерій, таких як *Streptomyces*, *Corynebacterium fasciomonads* і деякі нефлуоресцентні *Pseudomonas* (Kremer et al., 1990).

Перші бактерії, вивчені як біологічний агент боротьби з бур'янами, належали до роду *Xanthomonas*. Джонсон (1994) був першим вченим, який вивчав біогербіцид *Xanthomonas* для боротьби з мятликом однорічним (*Poa annua* L.) у бермудській траві (*Cynodon dactylon* L. Pers.). Були розроблені інші

прикладні дослідження, проведені з бактеріями для виробництва біогербіцидів: Jackson et al. (1998) вивчали *Xanthomonas campestris* для боротьби з *P. annua* L.; Zidack та ін. (1992) вивчали вплив *Pseudomonas syringae* на боротьбу з *Pueraria lobata*; і Begonia і Kremer (1994) вивчали вплив хемотаксису шкідливих ризобактерій на насіння оксамитового листя та розсаду. Camperico® є прикладом комерційного продукту, який був зареєстрований і комерціалізований у Японії та є ізолятом *X. campestris* pv. *roae*, що викликає системне в'янення мятлика однорічного (*P. annua*).

Таким чином, хоча бактерій, здатних створити біогербіциди, небагато, дослідження існують в науковій літературі та навіть зареєстровані деякі комерційні продукти.

Первинні метаболіти - це невеликі молекули, які містяться у всіх живих клітинах. Вони є проміжними або кінцевими продуктами проміжного метаболізму, будівельними блоками для основних макромолекул або коферментів. Основними метаболітами, найбільш промислово важливими є амінокислоти, нуклеотиди, вітаміни, розчинники та органічні кислоти (Demain, 2000).

До групи вторинних метаболітів входять антибіотики, токсини та пестициди (Betina, 1989; Demain, 2000; Li et al., 2003). Вторинні метаболіти, що виробляються нитчастими грибами, які демонструють токсичні властивості у тварин, узагальнено називаються мікотоксинами, а ті, які демонструють токсичні властивості у рослинах, називаються фітотоксинами. За допомогою фітотоксинів можна використати силу біогербіцидів.

Гриби, такі як *Alternaria*, *Fusarium*, *Colletotrichum* і *Phoma*, можуть виробляти фітотоксин (Li et al., 2003). Гриби *P. macrostoma* виробляють фітотоксини, відомі як макроцидини (макроциклічні 3-ацилтетрамінові кислоти), які є молекулами, які варто синтезувати, враховуючи їх потенціал як шаблон для розробки гербіцидів (Schobertand Barnickel, 2010). Graupner та ін. (2003) досліджували вплив макроцидинів, що виробляються грибом *P. macrostoma*, і

виявили, що при застосуванні макроцидинів до широколистяних рослин відбувається відбілювання листя та пригнічення росту коренів з подальшою загибеллю рослин. Дослідження, проведені Bailey et al. (2011b) з *P. macrostoma* показали, що смертність досягла 95% внутрішньопольових випробувань.

Існує багато грибів, які виробляють фітотоксини з біогербіцидною дією, деякі з яких AAL-токсин, корнексистин і тентоксин. Токсин AAL та його аналог за структурою можуть пригнічувати церамідсинтазу та призводити до накопичення сфінголіпідів, що викликає розрив мембрани. Корнексистин є інгібітором метаболізму, механізм дії цієї сполуки схожий з амінооцтовою сіллю. Він пригнічує один із ферментів аспарагінамінотрансферази, але після додавання кислоти з циклу трикарбонових кислот, наприклад аспарагінової кислоти та глутамінової кислоти, активність токсину зникає. Тентоксин має два різних механізми дії в різних умовах. Один з них перериває утворення хлоропласту шляхом блокування синтезу кодуєчого нуклеоцитоплазматичного білка, а інший є інгібітором енергетичної трансферази фактора сполучення АТФази для контролю фотофосфорилування (Li et al., 2003).

Щодо бактерій, *P. syringae* pv. *phaseolicola* є бактеріальним збудником хвороб рослин, який викликає хворобу ореолу та локалізовану загибель квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*) та кудзу (*P. lobata*), чий токсин називається фазеолотоксином. Як тільки він інфікує корені рослини, він поширюється на кінці пагонів, а потім викликає затримку росту, хлороз і навіть некротичні ураження листя (Li et al., 2003). Іншою бактерією, яка також викликає захворювання культурних рослин і бур'янів, є *P. syringae* var. *tabaci*, яка виробляє фітотоксин табтоксин, збудник лісової пожежі в тютюні (Hoagland et al., 2007). Фазеолотоксин, трипептид з *P. syringae* pv. *phaseolicola*, пригнічує синтез аргініну, конкуруючи з карбамоїлфосфатом за місце зв'язування на орнітинкарбамоїлтрансферазі (Li et al., 2003). *X. campestris* є ще одним бактеріальним біогербіцидом, зареєстрованим для боротьби з мятликом однорічним (Hoagland et al., 2007). Виділення та характеристика фітотоксину з

X. campestris pv. *retroflexus* були вивчені Mingzhi та ін. (2007), компоненти якого ідентифіковані як молекулярні сполуки, включаючи органічні кислоти та цикло-(пролін-фенілаланін). Для визначення впливу ізольованих фракцій на ріст цільового бур'яну щиріці (*Amaranthus retroflexus* L.) використовували тест на культивування в теплиці. Крім того, було оброблено тепличні та польові випробування, і результати показали, що використання токсину, схоже, має потенціал для подальшого розвитку як біогербіциду для боротьби з бур'янистими травами.

Біогербіциди на твердій основі

Препарати на твердій основі використовують вторинні метаболіти грибів чи бактерій як активний компонент в своїй формулі.

Тверді препарати [4] можуть мати місце для боротьби з бур'янами на пасовищах, угіддях і природних екосистемах, де негайна боротьба з бур'янами зазвичай не потрібна. У сільськогосподарських культурах своєчасність боротьби з бур'янами для мінімізації впливу має першорядне значення, і тут наголос у дослідженнях біогербіцидів був зроблений на аналогах звичайних застосувань гербіцидів.

Кілька видів злакових використовувалися як середовище для вирощування грибів і матеріал для застосування для біогербіцидів. До них належать рис (Boyette та ін. 1993), ячмінь (Vogelgsang та ін. 1998), просо (Grey та ін. 1995) і пшениця (Bourdôt та ін. 1995; Morris та ін. 1999). Після періоду інкубації колонізоване зерно висушують і зазвичай дрібно подрібнюють для застосування.

Основним обмеженням у використанні твердих (сухих) форм біогербіцидів є те, що вони повинні очікувати відповідних вологих умов для росту грибів та інфекції. Крім того, протягом цього періоду очікування живі активні інгредієнти повинні вижити в полі. Крім того, крадіжка препарату мурахами була проблемою з деякими препаратами (Gracia-Garza та ін. 1998).

Walker і Connik (1983) розробили елегантний метод інкапсуляції біогербіцидних грибів в альгінат кальцію. Пропагули грибів поміщають у розчин альгінату натрію і цю суспензію по краплях додають у розчин хлориду кальцію. Гранули альгінату кальцію, які утворюються з кожною краплею, містять грибкові пропагули. Після висушування ці кульки можна використовувати як матеріал для нанесення або як середовище для виробництва спор для використання в іншій композиції. Цей метод широко використовувався та модифікувався в експериментальній роботі з біогербіцидами (Daigle & Connick 2002).

Connick та ін. (1991) розробили інший інноваційний процес інкапсуляції, заснований на використанні макаронних виробів, який вони назвали «Pasta». Суспензію грибів змішують з пшеничним борошном і каоліновою глиною для утворення тіста, яке замішують і розкачують у тонкі листи. Потім висушені листи подрібнюють у гранули. Daigle та Connick (2002) повідомили про різні модифікації цієї техніки з використанням різного борошна, добавок, таких як рослинна олія, крохмаль, пірофіліт і вермикуліт, а також процесів екструзії та сушіння в киплячому шарі.

Іншу тверду формулу із використанням водопоглинаючого крохмалю, кукурудзяної олії, порошкоподібної сахарози та гідратованого кремнезему був описаний Quimby та ін. (1999) і назвав процес «Stabileze».

Бейкер та ін. (1992) описав складний метод інкапсуляції з використанням неіонних полімерних кульок. Спори грибка змочували в 6 М сорбіті, змішували з 5% полівініловим спиртом і розпилювали в гексан при -30°C , утворюючи кульки.

у 2003 році Chittick та ін. повідомили про процес сушіння розпиленням для інкапсуляції фрагментів гіф *Phomopsis* гриба для боротьби з осотом шафранним (*Carthamus lanatus* L.).

В одній з нових наукових робіт [6], що досліджують біогербіциди на твердій основі, бразильські дослідники поставили завдання оцінити технічні

стратегії отримання твердих формул, що містять активні біомолекули виробництва *Diaporthe* sp. за допомогою технології сухого розпилювання. Біогербіцидний потенціал твердих сумішей також порівнювали з рідкими сумішами, отриманими безпосередньо шляхом глибинної ферментації. Формули застосовували на тестовій рослині салату (*Lactuca sativa*). Оцінювали фітотоксичність, суху речовину та активність антиоксидантних ферментів, таких як активність ферменту супероксиддисмутази (SOD) і активність ферменту гваяколпероксидази (POD).

Спочатку була виконана центральна композиційна поворотна конструкція (CCRD) для двох незалежних змінних, щоб оптимізувати витрати подачі та повітря з метою максимізації виходу твердої речовини після сушіння твердої речовини. У цих експериментах замість метаболітів бродіння використовувалася лише вода. Наприкінці процесу визначали масу висушених твердих речовин і розраховували вихід на основі початкової маси твердої речовини (100 г). У оптимізованих умовах тверду рецептуру біогербіцидів готували після висушування ферментаційного бульйону.

Для отримання твердих формул використовували різні розчини (1000 мл), що містять воду, біогербіцид (5%, 25% і 100%, об./об.), ад'ювант (0% і 1%, об./об.) і кремній, який використовували в ролі інертної речовини дослідники. Кінцева тверда маса розчинів завжди підтримувалася в 100 г. Суха маса ферментаційного бульйону (біогербіциду) становила 12,5 г/л. Масу кремнію регулювали (75,6–99,4 г), щоб отримати остаточною твердою масу 100 г.

Ефективність композицій дослідники оцінювали в післясходових біотестах з салатом (*Lactuca sativa*) як тестовими рослинами. Бразильські дослідники використовували сорт *Larissa* (насіння *Sakata*), а рослини були придбані через місцеву торгівлю. Їх пересаджували в поліетиленові чашки, що містили 250 г комерційного субстрату (Mecplant®, Telêmaco Borba, Бразилія) без будь-якої обробки. Рослини культивували в теплиці протягом 15 днів перед

внесенням біогербіциду, коли рослини досягли фази двох-трьох листків. Кожна обробка включала три рослини в трьох примірниках, загалом дев'ять рослин.

Щоб оцінити вплив типу препарату (твердий або рідкий), кількості ад'юванту (0% і 1%, об./об.) і відсотка ферментованого бульйону (5%, 25% і 100%, об./об.) на ефективність біогербіциду дослідники $2 \times 2 \times 3$ провели трифакторний експеримент. Він складався з 12 циклів, які включали комбінацію двох типів рецептури, присутності або відсутності ад'юванту та трьох відсотків ферментованого бульйону. Також було проведено контрольне випробування без застосування. Твердий продукт розчиняли в дистильованій воді перед нанесенням у співвідношенні 100 г на 1000 мл. Продукти застосовували в біотестах після сходів, використовуючи ранцевий розпилювач під тиском CO_2 , обладнаний плоскою струминною площиною DG 11002 із шеститочковою штангою, відстанню 0,50 м, постійним тиском 0,28 МПа та питомим об'ємом, еквівалентним 150 л га⁻¹.

Загалом дослідники виявили, що тверда композиція, отримана в процесі сушіння розпиленням, показала найкращі результати з точки зору біогербіцидної активності, оскільки фітотоксичність проти салату була вищою, ніж рідка композиція, що підтверджує початкову гіпотезу. Основна причина найкращих результатів твердої рецептури пов'язана з концентрацією біоактивних сполук у біогербіциді. Вода видаляється з ферментованого бульйону шляхом швидкого процесу, що дозволяє уникнути значної втрати біологічної активності грибкових метаболітів. У цьому сенсі якісні висновки та кількісні дані продемонстрували, що композиція для розпилювальної сушки здатна концентрувати біомолекули з низьким рівнем деградації в процесі сушіння. В іншому випадку в рідкій композиції спостерігається низька концентрація фітотоксинів, оскільки метаболіти, що утворюються під час бродіння, розбавляються у великому об'ємі води.

Використання ад'юванту в обох композиціях (твердій і рідкій) підвищувало фітотоксичність. Це краще показано на малюнку 2, де контрольний

тест порівнювався з твердою сумішшю, що містить 100% (об./об.) біогербіциду без ад'юванту проти 100% (об./об.) біогербіциду з ад'ювантом. Використання салату як дослідної рослини могло вплинути на фітотоксичність, оскільки листя салату були гладкими без ворсистості. У цьому сенсі застосування ад'юванту забезпечувало адгезивність і кращий розподіл біомолекул на поверхні листя, підвищуючи гербіцидну дію на рослини.

У твердій композиції, отриманій розпилювальним сушінням, присутність ад'юванту та висока концентрація ферментованого бульйону забезпечили найвищу активність антиоксидантного ферменту POD. Коли рослина зазнає стресу, для збалансування АФК відбувається активація антиоксидантних ферментів. Однак у деяких випадках, наприклад при застосуванні гербіциду, рослини не можуть зменшити АФК і навіть збільшити виробництво своїх антиоксидантних ферментів. Тому в більшості випадків це викликає деградацію мембрани.

Загалом, дослідники знайшли, що тверда формула з використанням сухого розпилювання речовини була оптимальною для індукування фітотоксичної дії на контрольній рослині. Фітотоксичність була безпосередньо пов'язана з концентрацією ферментативного бульйону у формулі. Застосування ад'юванту підвищило ефективність біогербіциду. Технологія сухого розпилювання є перспективною технологією для концентрування біогербіцидів без втрати біоактивних сполук, коли буде вирішено одну з головних проблем у виробництві біогербіцидів, а саме низьку концентрацію активного інгредієнта у ферментованому бульйоні.

Біогербіциди на основі водної суспензії

Найпростішими рідкими композиціями біогербіцидів є водні суспензії спор, часто з невеликою кількістю змочувача (наприклад, 0,1% об./об.), такого як Твін 20 (поліоксіетиленсорбітан монолаурат). Зазвичай вони використовуються як стандарти для порівняння складніших складів. Однак за

ідеальних умов для грибкової інфекції прості водні суспензії можуть бути успішними в польових умовах.

Шабана та ін. (1997) оцінили вісім гідрофільних полімерів, включаючи альгінати, камеді, поліакриламід, похідне ацелюлози та муцилоїд. Геланова камедь, альгінати та поліакриламід покращили патогенність водного міцеліального інокулянта *Alternaria eichhorneae* Nag Raj & Ponnara в експерименті з контрольованим середовищем.

Чіттік і Оулд (2001) оцінили три природні (смоли) і чотири штучні (поліакриламід) гідрофільні полімери в біогербіциді на основі *Colletotrichum orbiculare* (Berk. & Mont.) Arx. Було виявлено незначне покращення неефективності на оброблених рослинах порівняно із простою водною суспензією за відсутності роси. Дослідження втрат води з полімерів показали, що за низької вологості (33% відносної вологості (RH)) мало води залишається після 8 годин порівняно з вищою вологістю (75% RH), хоча активність води (a_w) у залишковій воді залишалася високою.

Доведено [7,8], що органічні екстракти (ОЕ) *Dittrichia viscosa*, рудеральної рослини, поширеної в регіонах Середземномор'я, мають гербіцидні властивості. Щоб підвищити ефективність ОЕ та розробити нові екологічно чисті біогербіцидні продукти, різні кількості ОЕ були включені в плівки на основі полі(бутиленсукцинату) та полікапролактону (PBS та PCL відповідно). Особливу увагу приділено вивченню взаємодій між полімерами та ОЕ, приділяючи глибоку увагу впливу ОЕ на структурні, морфологічні та термічні властивості обох полімерів, щоб оцінити кінетику вивільнення ОЕ з матриць та його налаштовану гербіцидну дію проти насіння.

Використання біологічно розкладаних полімерів дозволяє покращити ефективність і налаштування вивільнення складених біологічно активних сполук. ОЕ, яке легко отримати та сформулювати, може стати відповідним та екологічно чистим інструментом у програмах боротьби з бур'янами.

Особливо привабливими для використання в біогербіцидах є вторинні метаболіти, які виробляються організмами під час їх взаємодії з іншими організмами, щоб захистити себе від нападу інших організмів або для боротьби з захисними бар'єрами ворогів, або як реакція на стресові ситуації навколишнього середовища, наприклад. алелопатичні сполуки, фітоалексини, вторинні метаболіти рослин і грибів.

Біогербіциди на основі водної емульсії

В минулій науковій роботі [8], що розглядала органічні екстракти, дослідники вивчили вторинні метаболіти десятих рослин з середземномор'я, одним з найперспективнішими були сполуки з *Dittrichia viscosa*. Біологічне очищення [9,10] його ОЕ дозволило виділити основні фітотоксичні компоненти, визначені як альфа-костинова кислота, біциклічна сесквітерпенова кислота та чотири нових фітотоксичних бі- та трициклічних сесквітерпенових лактони, названі інулоксинами А–D.

Нещодавно інулоксин Е, який характеризується як новий сесквітетерпеноїд секо-евдесманоліду, був виділений з того ж ОЕ, і доведено, що він індукує проростання паразитичного бур'яну *Orobanche cunana*. Окремі метаболіти, як і весь ОЕ, показали ефективну гербіцидну дію також проти інших бур'янів, порушуючи проростання насіння та викликаючи некроз при нанесенні на листя та стебла рослин.

Dittrichia viscosa є поширеною в середземномор'ї, та може бути вирощена як сільськогосподарська культура, що надасть достатньо біомаси для вироблення її вторинних метаболітів. Серед речовин *Dittrichia viscosa* також присутні сполуки пов'язані з пригніченням росту бактерій і грибків - похідні кавових кислот і флавоноїди, та сесквітерпенові лактони та сесквітерпени евідесману, що пригнічують життєдіяльність нематодів, кліщів, комах та паразитичних рослин [11,12].

Природна здатність мікроорганізмів виділяти високі рівні біоактивних сполук робить їх привабливими організмами для виробництва нових сполук. За

своїми фізико-хімічними властивостями мікробні біополімери [13] мають деякі переваги, такі як здатність до біодеградації, відтворюваність і стабільність.

Біополімери - це природні полімери або кополімери. Це молекули органічної природи з високою молекулярною масою, вироблені із сировини з відновлюваних джерел або мікроорганізмами. Кілька мікроорганізмів ідентифіковані як мікробні продуценти біополімерів, і ці полімери можна знайти як прикріплені до поверхні клітини, так і екстраговані з ферментаційного середовища.

Мікробні біополімери, отримані шляхом ферментації, включають різні сполуки, такі як ліпіди, білки, гетерополісахариди, гліколіпіди та ліпополісахариди, серед інших. Як полісахариди, так і сполуки з біоповерхнево-активними властивостями, такі як гліколіпіди, є предметом різноманітних досліджень і комерційно виробляються, наприклад, ксантанова камедь [14] і емульсановий емульгатор [15]. Завдяки своїм біологічним функціям мікробні полісахариди можна класифікувати як внутрішньоклітинні або позаклітинні біополімери [16]. Позаклітинні біополімери (ПБП) були класифіковані за категоріями на основі їх функціональних можливостей: структурні (діють на утримання води в матриксі та захист клітин), сорбційні (складаються із заряджених полімерів), поверхнево-активні (присутні молекули з амфифільною поведінкою), активні, інформативні, поживні та окислювально-відновні функції [17].

Одним із нових застосувань ПБП є боротьба з бур'янами. У недавньому дослідженні було продемонстровано, що гербіцидна активність культурального фільтрату пов'язана зі збільшенням концентрації ПБП [18]. Можливість виробництва ПБП грибами може принести багато переваг сільському господарству, оскільки вплив надмірного використання хімікатів на навколишнє середовище потребує значного зменшення.

Однією з проблем, які охоплюють виробництво біогербіцидів, є відновлення біомолекул із ферментованого розчину з метою подальших кроків

стабілізації та формулювання. Тому, щоб зменшити витрати на розробку порівняно зі звичайними гербіцидами, потрібні дешевші методи концентрації та очищення. Використання мікрофільтраційної мембрани [13] для концентрування метаболітів *Phoma* sp. був ефективним для підвищення гербіцидної активності та видалення непотрібних сполук.

Прості емульсії рослинної олії (що містять 10% олії та 1% емульгуючого агента) виявились перспективними для зменшення залежності від роси в дослідженнях з контрольованим середовищем з використанням *S. orbiculare* на бурі Батерста (*Xanthium spinosum* L.) (Auld 1993). Однак у польових умовах ефективність цих препаратів була непостійною (Klein та ін. 1995).

Zhang і Watson (1997) використали модифіковану версію цього типу емульсії, додавши до масляної фази 1% (мас./об.) декстрази та 0,2% (мас./об.) карбоксиметилцелюлози. Вони досягли більш ніж 90% смертності комірних трав (*Echinochloa* spp.), обприсканих *Exserohilum monoceras* (Drechs.) K.J. Леонард і E.G. Suggs в імітованих польових умовах. Інші (Lawrie та ін., 1997; Shabana, 1997) повідомили про підвищення ефективності за допомогою різних модифікацій цього типу простої емульсії. Boyette (1994) використовував нерафіновану кукурудзяну олію, змішану з водою (1:1 об./об.), щоб утворити просту емульсію, яка зменшила залежність від роси *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D. Moore на коноплі сесбанії (*Sesbania exaltata* (Raf.) Kori).

Механізм, за допомогою якого прості емульсії можуть зменшити залежність від роси, не ясний. Гривз та ін. (2001) припускають, що інвертні емульсії утворюються на поверхні листя, а також, коли олія проникає в тканину листя та змішується з водними компонентами тканини листя.

Алелопатичні сполуки, перспективний вид біогербіцидів, включають різні групи вторинних метаболітів, найважливішими з яких є леткі терпеноїди та фенольні сполуки. Ефірні олії [19] являють собою суміші різних груп летких сполук, основними компонентами яких є терпеноїди, що легко випаровуються,

особливо монотерпени. Стереоізомери цих сполук дуже поширені та мають різні фізико-хімічні властивості. Стереохімія непеталактону значною мірою визначає його антимікробну та алелопатичну активність, причому транс-цис-ізомер є більш активним, ніж цис-транс-ізомер у пригніченні росту бактерій і коренів, а також пригнічує активність супероксиддисмутази в амброзії. Крім того, транс, цис-ізомер індукує зміни в антиоксидантній системі проростків крес-салат, порушуючи нормальну експресію та моделі активності антиоксидантних ферментів. Транс,цис-стереоізомер дуже токсичний для деяких комах і діє як більш потужний репелент.

Рід *Nepeta* є одним із найбільших родів родини *Lamiaceae* (підродина *Nepetoideae*, триба *Menthae*), і його представники широко відомі як котяча м'ята або котяча м'ята. Він налічує 280 видів, які важливі для людини як лікарські, декоративні та кулінарні рослини. Підродина *Nepetoideae* складається з двох груп – видів, багатих на іридоїди, до яких входить *N. rtanjensis*, і видів, які не мають іридоїдів. Оскільки *Nepeta rtanjensis* є ендемічним видом гори Ртань у східній Сербії [20] і є природною рідкістю, яка охороняється законом, важливо зазначити, що достатньо рослинного матеріалу для дистиляції ефірної олії можна отримати лише за допомогою процесу мікроклонального розмноження. в умовах *in vitro*, а також шляхом вегетативного розмноження в теплиці та в польових умовах.

Види роду *Nepeta* мають лікувальні властивості завдяки складу ефірної олії, яка характеризується наявністю непеталактону у значних кількостях. Непеталактони являють собою особливу групу монотерпенів – іридоїдів, які можуть бути представлені у вигляді восьми стереоізомерів, чотирьох діастереоізомерів і відповідних енантіомерів. За кількома винятками, лише діастереоізомери 7S були знайдені в природних умовах. Транс,цис-стереоізомер непеталактону (4 α , -7 α , -7 β -непеталактон) переважно присутній в ефірній олії *N. rtanjensis*, тоді як цис,транс-стереоізомери (4 β , -7 α , -7 β -непеталактон) присутні у меншому відсотку.

У згаданому дослідженні [19] алелопатичний ефект ефірної олії був продемонстрований прямим контактом насіння з водною емульсією. Ефірні олії, що містять високі рівні терпенів з низькою молекулярною масою, впливають на проростання насіння та ранній ріст розсади, змінюючи нормальні процеси поділу клітин, знижуючи мітотичний індекс і викликаючи хромосомні аномалії в корневих меристемах. Відомо, що монотерпени викликають анатомічні та фізіологічні зміни в рослинах, пригнічуючи синтез ДНК і порушуючи мітохондріальні та ядерні функції, руйнуючи клітинну мембрану, збільшуючи текучість або пригнічуючи мембранні ферменти та сприяючи утворенню активних форм кисню (АФК).

Значно сповільнене та знижене проростання *A. retroflexus* із збільшенням концентрації NrEO узгоджується з Mutlu та ін. [21], що проростання *A. retroflexus* було повністю інгібовано при концентрації 0,02% ефірної олії *Nepeta meyeri*, яка має дуже подібний вміст непеталактону до *N. rтанjensis* в ефірній олії. Мутлу та ін. [22] показали, що ефірна олія *N. meyeri* пригнічує проростання десяти інших видів бур'янів. Кордалі та ін. [23] продемонстрували, що інгібуюча дія ефірної олії *N. meyeri* на проростання та ріст сходів чотирьох видів бур'янів, включаючи *A. retroflexus*, була подібною або вищою, ніж у комерційного гербіциду трифлураліну.

Біогербіциди на основі наночастинок з ефірними оліями

Повідомляється [24], що ефірні олії є придатним варіантом для боротьби з бур'янами. Ефірна олія з рослини *C. viminalis* багата 1,8-цинеолом (евкаліптол), α -пінін, + (-)-лімонін і α -терпініол. Це леткі олії, що складаються з великої кількості сильних ароматичних компонентів, що мають характерний запах, смак або запах. Це вторинні метаболіти рослин і присутні в їх залозистих волосках або секреторних порожнинах клітинної стінки. Вони присутні у вигляді крапель рідини в листках, стеблах, корі, квітах, коренях та/або плодах різних рослин.

Їх екстракція може бути здійснена різними методами, такими як дистиляція з водяною парою, надкритична рідинна екстракція, екстракція

субкритичним CO₂ і холодне пресування тощо. Хоча EO мають багато корисних властивостей, їх використання обмежене через їхні властивості, які обмежують їх використання або дослідження в розробці гербіцидів, у великих масштабах і природних умовах.

Echinochloa crus galli та *Phalaris minor* є цільовими видами бур'янів у згаданому дослідженні. Знайдено значне пригнічення проростання насіння, коли капсульована ефірна олія застосовується в виді бальзаму. Воно найбільш фітотоксичний при 8% інкапсуляції ефірної олії. Інкапсуляція захищає ефірні олії від швидкого розкладання та легкої втрати. Ефект інкапсуляції ефірної олії залишається стійким завдяки повільному та контрольованому вивільненню ефірних олій, яке регулюється релаксацією та розривом полімерів [25]. Максимальне пригнічення проростання спостерігалось у *P. minor* порівняно з *E. crus-galli* L. Ймовірною причиною цього може бути відносно гладка оболонка насіння, менше співвідношення маси до об'єму *P. minor* порівняно з *E. crus-galli* L.

Розчини, що використовують ефірні олії та біополімерів в інкапсульованій формі називаються Нано-капсульованими гербіцидами (НКГ), та використання цих розчинів вже проходить технологічне випробування та дає достовірні та позитивні результати. Принципом роботи цих розчинів є інкапсуляція діючої речовини в виді ефірних олій, біополімерів за допомогою сполук як гуміарабіку, мальтодекстрину, перської камеді, та інших.

В 2020 році Іранські дослідники провели дослідження [26] в якому вони додали до формули розчину НКГ додаткові зв'язуючі сполуки в формі лимонної кислоти та трансглютамінази. Листя чаберу було зібрано на стадії повного цвітіння у вересні 2018 року з експериментального поля коледжу сільського господарства Ширазського університету, Шираз, Іран (52°46' E, 29°50'N). Листя сушили в тіні при 25/19 °C (день/ніч) протягом 12 днів. Вид рослини ідентифікував і підтвердив А. Хосраві, систематик рослин із Ширазського університету, Шираз, Іран. Ваучерні екземпляри були занесені до гербарію.

ЕО чаберу екстрагували з висушеного листя за допомогою апарату типу Клевенджера протягом 3 годин згідно з методом, описаним у Європейській Фармакопеї (1988). Отриманий ЕО сушили над безводним сульфатом натрію і зберігали в герметичних флаконах у темних умовах при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ перед газовою хроматографією (ГХ) і хромато-мас-спектрометричним (ГХ-МС) аналізом.

НКГ-ЕО готували методом комплексної коацервації, а технологію крос-лінкінгу – за методикою, описаною Lv та ін. [27] зі змінами. Композиції нанокапсульованого гербіциду (NCH) у цьому дослідженні включали будь-який із трьох біополімерів, тобто аравійську камедь, персіангум та перську камедь/желатин, два крос-лінкери (трансглутаміназу та лимонну кислоту), ЕО чаберу та воду.

Потім дослідники готували розчин з концентрацією 0,5 % (мас./об.) кожного біополімеру (ів), потім додавали ЕО/Tween 80 до розчину біополімеру кожної обробки. Розчин біополімеру/ЕО/поверхнево-активної речовини емульгували при швидкості перемішування 5000 об/хв протягом 15 хв.

Дослідження було проведено як горщиківий експеримент в експериментальній теплиці Департаменту садівництва в Коледжі сільського господарства Ширазського університету (Шираз, Іран). Свіже насіння амаранту було зібрано з експериментального поля коледжу сільського господарства Ширазського університету в серпні 2016 року. Насіння томатів сорту Royal G-40 було придбано в Azar-Sabzineh Co. Через чотири тижні після посадки рослини томатів обприскали різними нано-капсульованими гербіцидами (NCH) у відповідних концентраціях за допомогою ручного садового розпилювача (100 мл/м²). Рослини амаранту отримували таку саму обробку на стадії 4–6 листків. Вода та вода плюс Tween 80 вважалися контрольними групами. Загалом було використано 120 горщиків і застосовано 20 обробок. Було три повторення для кожного лікування. Ці рослини оцінювали за візуальними симптомами токсичності на 2-й та 7-й дні після нанесення NCH.

Згідно з результатами, використання лимонної кислоти як зшиваючого агента призвело до утворення менших крапель порівняно з ферментом Tg. Зшивання PG (перської камеді) та AG (аравійської камеді) лимонною кислотою значно зменшило розмір наночастинок порівняно з ферментом Tg, тоді як у випадку PGG (перської камеді/желатину) різниця не була істотною. Лимонна кислота має карбоксильні функціональні групи, які можуть реагувати з амінними групами білків, а також з гідроксильними групами полісахаридів, тоді як фермент Tg діє лише між амінними групами білків. Тому у випадку PG і AG лимонна кислота створювала зв'язки між їхніми білками та полісахаридами, тоді як фермент Tg реагував лише з їхніми білками. Таким чином, лимонна кислота показала кращу продуктивність завдяки створенню більш відповідної матриці, яка могла б ефективно вловлювати краплі EO та значно зменшувати розмір крапель. У випадку композицій PGG вищий відсоток білка в желатині зробив обидва зшивачі схожими за ефективністю, тому розмір отриманих нанокapsул не відрізнявся суттєво.

Дослідники виявили, що інкапсуляція чаберних ефірних олій з біополімерами та природними крос-лінкерами була ефективною та підвищила їх гербіцидну активність порівняно з емульсією ненаноефірних олій без полімеру. Наноінкапсульовані гербіциди показали хорошу стабільність протягом 42 днів із середньою часткою розмір менше 200 нм. Механізм вивільнення більшості перевірених композицій регулювався аномальним транспортом. Отримані результати показали, що композиція, яка містить персіангум як матеріал стінки та лимонну кислоту як крос-лінкер, показала найвищу гербіцидну активність проти амаранту при концентрації 15 мг/мл. Іншим важливим висновком було те, що формула з нижчою швидкістю вивільнення та меншим розміром частинок продемонструвала вищу фітотоксичність. Формули з більш високою фітотоксичною здатністю значно знижували свіжу масу, вміст пігментів фотосинтезу, фенолу, флавоноїдів і крохмалю в уражених рослинах. Виходячи з отриманих результатів, можливий механізм застосованих композицій, ймовірно,

пов'язаний із збільшенням витоку електроліту та перекисного окислення ліпідів, а також перешкоджає фотосинтетичному метаболізму та синтезу білка.

В іншому дослідженні [27] – використовували комплекс гуміарабіки з гелатином. Принцип роботи такого комплексу дослідники пояснюють як взаємодія електростатичний зв'язків між гуміарабікою та гелатином, що за допомогою сили притягання та відштовхування формують цілісні, виражені наночастинки з цільовою молекулою ефірної олії.

На мою думку, потрібно визначити інші молекули, що мають здатність зв'язуватись та утворювати комплекси з молекулами субстрату, для можливих подальших застосувань.

Одною з найбільш досліджених та перспективних родин рослин щодо використання ефірних олій є родина *Lamiaceae* [28]. Відомо, що вони містять високі концентрації летючих алелохімічних речовин, які відповідають за їхній аромат, і, як повідомляється, надають виду конкурентну перевагу в їхньому природному середовищі існування. Екстракти різних видів *Lamiaceae* були ретельно вивчені та виявили, що вони пригнічують проростання та ріст багатьох видів бур'янів. Повідомляється, що ефірні олії (ЕО) таких видів, як орегано, чебрець, розмарин, шавлія та м'ята, є особливо сильними біогербіцидами.

Хоча існують численні дослідження, які повідомляють про успішне використання ефірних олій у боротьбі з бур'янами, на сьогодні все ще існує багато обмежень, які обмежують їх практичне застосування в комерційних біогербіцидах. Наприклад, досі чітко не описана роль складу ЕО. Механізми дії та спостережувана вибірковість також дуже погано вивчені, що обмежує їх раціональне застосування. Крім того, досі відсутні дослідження щодо можливих побічних ефектів цих ЕО на корисні ґрунтові мікроорганізми.

Метод екстракції є визначальним фактором у вилученні активних сполук із рослин, враховуючи, що вторинні метаболіти різних груп мають різні хімічні властивості (летючість, полярність тощо). Наприклад, антоціани, дубильні речовини, сапоніни та терпеноїди можна відновити за допомогою води, тоді як

поліфеноли, флавоноїди, флавони та алкалоїди потребують органічних розчинників. Як і терпеноїди, багато досліджень зосереджено на ідентифікації фенолів з біогербіцидним потенціалом. Це пояснюється тим, що вони легко екстрагуються і розчиняються у воді. Зазвичай вони є основними компонентами у водних і органічних екстрактах розчинників, полярність яких визначає тип і кількість екстрагованих фенолів. Прикладом добре вивченого фенолу з таким ефектом є юглон, що виробляється з волоських горіхів. Ці різні екстракти часто мають різний рівень токсичності.

Загалом у літературі можна знайти три основні групи екстрактів: ефірні олії (ЕО), водні екстракти та екстракти органічних розчинників.

Ефірні олії: іноді їх називають леткими оліями, це природні речовини, які можна витягти з ароматичних рослин шляхом дистиляції або відповідного механічного процесу без нагрівання. ЕО в основному містять сполуки, які можуть випаровуватися під час екстракції, що робить це ефективним засобом вилучення рослинних терпеноїдів у найчистішому вигляді. Ці екстракти з ароматичних рослин, які найчастіше тестуються, можуть спричинити вищу фітотоксичність порівняно з водними або органічними екстрактами розчинників.

Водні екстракти: їх отримують простим замочуванням у воді меленого сухого матеріалу з рослин, з якого екстрагуються водорозчинні сполуки. Декілька фенолів розчиняються у воді і можуть бути успішно екстраговані за допомогою цього методу. Водні екстракти використовувалися для дослідження біогербіцидного потенціалу багатьох рослин, і було виявлено, що вони справляють значний ефект переважно при найвищих перевірених концентраціях.

Екстракти органічних розчинників. Ця група складається в основному з фенолів. Оскільки тип розчинника (здебільшого відрізняється полярністю) впливає на кількість і тип екстрагованих фенолів, автори використовували різні розчинники. Найбільш часто використовуються метанол, етанол, ацетон, етилацетат, н-гексан і хлороформ. Вибір розчинника залежить від типів фенолу,

присутніх у досліджуваній рослині, і багато авторів одночасно тестували різні з них, щоб порівняти склад і фітотоксичність отриманого екстракту.

Хоча алелохімічні речовини можуть впливати на певні функції, такі як фотосинтез або дихання, їм не вистачає специфічності, що виключає їх використання як селективних біогербіцидів. Це також означає, що вони можуть бути фітотоксичними для сільськогосподарських культур, і з ними слід обережно поводитись під час застосування. Проте багато досліджень, які випробовували рослинні екстракти на різних видах бур'янів, виявили різний ступінь чутливості. У більшості випадків однодольні були більш стійкими, ніж дводольні [29,30,31]. Крім того, часто повідомлялося, що багато сільськогосподарських культур постраждали менше, ніж бур'яни; наприклад, при застосуванні EO *Satureja hortensis* L. і *Laurus nobilis* L. у низьких концентраціях схожість *A. retroflexus* значно знизилася, тоді як помідори не постраждали. Однак при найвищій дослідженій концентрації схожість помідорів також знижувалася, хоча й меншою швидкістю, ніж *A. retroflexus* [30]. Подібні результати були отримані при застосуванні *Origanum onites* L. та *Rosmarinus officinalis* L. на *Avena sterilis* L., *Sinapis arvensis* L. та ряді сортів пшениці, де останні уражалися менше [29]. Це свідчить про те, що обережне дозування може усунути фітотоксичність для культур. Тим не менш, дослідження не змогли пояснити цю варіацію чутливості, що ускладнює її прогнозування та використання. Потрібні подальші дослідження, щоб краще зрозуміти механізм дії різних алелохімічних речовин і синергію, завдяки якій вони діють у рослинних екстрактах.

Органічне землеробство покладається на здоров'я ґрунту та природні ґрунтові процеси, щоб задовольнити потреби рослин у поживних речовинах і забезпечити довгострокову родючість. Насправді одним із серйозних недоліків синтетичних хімікатів є їхній вплив на біорізноманіття ґрунту та шкідливий вплив на корисні організми. Рослинні екстракти з подібною дією не можуть бути рекомендовані, незважаючи на їх можливу ефективність проти бур'янів. Лише

кілька досліджень торкалися цього важливого аспекту. Як зазначено в параграфі «вплив на поглинання та доступність поживних речовин», деякі алелохімічні речовини можуть бути шкідливими для нітрифікаційних бактерій [32]. Крім того, було показано, що багато рослинних екстрактів, особливо з родини *Lamiaceae*, мають антимікробні властивості [33,34,35]. Тому можуть виникнути сумніви щодо їх можливого шкідливого впливу на ґрунтові мікроби. Однак інші дослідження показали позитивний вплив у цьому відношенні; летючі речовини з люцерни (*Medicago sativa* L.), наприклад, індукували швидке посилення мікробного дихання та зростання міцелію грибів при додаванні в ґрунт. Таким чином, результати свідчать про можливий сприятливий вплив на початкову стадію колонізації розкладачів рослинних залишків [36]. Різні висновки можна пояснити варіаціями концентрації сполук у контакті з мікроорганізмами.

Підводячи підсумок, можна сказати, що алелохімічні речовини (негативно чи позитивно) впливають на мікробне співтовариство ґрунту. Таким чином, оцінюючи використання рослинних екстрактів як агрохімікатів, слід також звернути увагу на виявлення будь-яких можливих негативних наслідків для життя ґрунту, що є ключовим компонентом будь-якої стратегії сталого управління.

У той час як введення біомаси алелопатичних видів рослин у ґрунти стримується труднощами накопичення активних концентрацій [37], пряме використання концентрованих екстрактів в основному обмежене чутливістю до факторів навколишнього середовища. Потрапляючи в навколишнє середовище, екстракти піддаються розкладанню мікроорганізмами або хімічними реакціями. Блум [38] повідомив у розділі книги «Доля фенольних алелохімікатів у ґрунтах – роль мікроорганізмів ґрунту та ризосфери», що, оскільки мікроорганізми використовують фенольні кислоти як джерело вуглецю або енергії, вони, таким чином, більш схильні до мікробної трансформації та утилізації, ніж до інших процесів (іонізація, окислення, сорбція на частинках ґрунту, фіксація в неподатливій органічній речовині (наприклад, полімеризація)). У цьому розділі

автор повідомляє про результати багатьох досліджень, які свідчать про те, що це розкладання є дуже ймовірним і що фенольні кислоти навряд чи спричинять будь-які фітотоксичні ефекти. Крім того, Мармулла та Хардер [39] повідомляють, що монотерпени, такі як d-лімонен, α -пінен, γ -терпінен і терпінолен, легко розкладаються біологічно. Вони також виявили, що різні монотерпени демонструють різну сприйнятливість до деградації. Крім того, багато алелохімічних речовин дуже сприйнятливі до спонтанного розкладання; Абіотичні фотохімічні процеси в атмосфері можуть призвести до тривалості життя від хвилин до годин, як цитують ті ж автори [37]. Однак про їх абіотичну деградацію в ґрунті відомо дуже мало [34]. Ці аспекти свідчать про те, що алелохімічним речовинам може бракувати необхідної стійкості, щоб бути ефективними біогербіцидами. Це можна виправити, вибравши критичні стадії росту бур'янів. Навіть короткий період фітотоксичності може вплинути на конкурентоспроможність бур'янів щодо сільськогосподарських культур [34]. Інший підхід, який нещодавно досліджується, полягає у використанні інноваційних складів, які можуть регулювати швидкість вивільнення без шкоди для бажаних рівнів концентрації. Наприклад, експерименти з EO розмарину, інкапсульованими в крохмальну матрицю, були успішними [40].

Незважаючи на численні обмеження, використання рослинних екстрактів для боротьби з бур'янами все ще вважається сферою з великим потенціалом. Однак, щоб усунути обмеження, дослідження повинні зосередитися на кращому розумінні явищ з точки зору:

- Зв'язок спостережуваних ефектів екстрактів з дією конкретних сполук та їх синергією;
- Визначення механізмів фітотоксичності для її посилення та розуміння вибірковості;
- Визначення найбільш чутливих стадій розвитку бур'янів для підвищення ефективності та вирішення проблеми обмеженої тривалості ефекту;

- Визначення інноваційних рецептур, які враховують взаємодію екстрактів з польовими умовами (структура ґрунту, мікроорганізми та абіотичні фактори, такі як світло та температура);
- Визначення інноваційних методів вирощування та екстракції ефірних олій, щоб гарантувати комерційну доцільність масового виробництва великої кількості ЕО;
- Визначення складів, які дозволяють утримувати концентрації ЕО в технічних межах для легкого застосування в сільськогосподарських масштабах.

Загалом виділяють 4 основні види *Lamiaceae* для використання в біогербіцидах:

Орегано описується в літературі як рослина, що має характерний запах листя та квіт [41], основні види орегано, що належать до родини *Lamiaceae*, *Poliomintha longiflora* L., *Origanum vulgare* L. та *O. onites*, в основному зустрічаються в Середземномор'ї. *O. vulgare* і *O. vulgare* subsp. *hirtum* лестварт особливо багаті ефірними оліями (до 8% сухої ваги) [41]. Відомий запах і смак цих видів головним чином пов'язаний із вмістом у них карвакролу, який, крім тимолу, п-цимену та γ -терпінену, як відомо, є основним компонентом ефірної олії орегано [42,43,44]. Що стосується біогербіцидного ефекту, чистий карвакрол і ЕО з деяких видів (головним чином *O. vulgare* і *O. onites*) були широко досліджені з цікавими висновками. У дослідженні De Mastro et al. [42] на *A. retroflexus* і *Lolium perenne* L. карвакрол у концентрації 0,3 мкл/мл повністю інгібував проростання обох видів. У цьому ж дослідженні оцінювалося застосування сухої біомаси гібриду орегано (*O. vulgare* ssp. *virilidum* x *O. vulgare* L. ssp. *hirtum*) у горщиківих випробуваннях, і багатообіцяючі результати були отримані з використанням 20 г на кг ґрунту. В іншому дослідженні Atak et al. [29], *O. onites* ЕО був протестований проти *A. sterilis* і *S. arvensis* L., і сильне пригнічення спостерігалось на обох видах, починаючи з 0,2 мкл/мл. У цьому

експерименті ЕО також було протестовано на ряді сортів пшениці, які виявилися менш чутливими: це спонукало авторів запропонувати можливе дозоване застосування ЕО як біогербіциду на пшеничних полях. Ibáñez i Blázquez [45] також протестували ЕО з домінуванням карвакролу (60,42%) проти *Portulaca oleracea* L., *Lolium multiflorum* L. і *Echinochloa crus-galli* L. Вони виявили, що проростання було повністю пригнічене у всіх видів, починаючи з найнижчого. досліджувана доза: 0,125 мкл/мл. Ханана та ін. [46] виявили таку ж високу ефективність при низьких дозах на деяких важливих видах бур'янів (*S. arvensis* L., *Phalaris paradoxa* L. і *Lolium rigidum* Gaud), використовуючи багатий на карвакрол і δ -терпінен ЕО з *O. vulgare*. Висока врожайність, сильний антипроростковий і фітотоксичний ефект роблять орегано ЕО перспективним біогербіцидом.

Розмарин (*R. officinalis*), вічнозелений кущ, який може виростати до 2 м у висоту, має ароматне листя та квіти, багаті ефірними оліями [41]. Родом із Середземноморського регіону, він характеризується високою стійкістю до спеки, посухи та бідних, сухих, піщаних і кам'янистих типів ґрунтів. Його вирощують у різних частинах світу, таких як Європа, Африка та Азія, і використовують у різних кулінарних, фармацевтичних та косметичних галузях. У роду *Rosmarinus* є три види: *R. officinalis*, *R. eryocalix* і *R. tomentosus*, але *R. officinalis* є найпоширенішим і важливим для його цінного ЕО, який можна екстрагувати в кількості від 0,9 до 2,5 % в залежності від багатьох факторів. Розмарин ЕО цінується в косметиці за сильний камфорний аромат, а в медицині за вміст у ньому високоцінних біологічних сполук.

Рід *Thymus* L. з родини *Lamiaceae* налічує понад 200 видів трав'янистих багаторічників і невеликих чагарників. Багато з цих видів широко поширені в світі, але центром роду вважають Середземноморський регіон. Біоактивність може бути пов'язана з високим вмістом фенольних монотерпенів (наприклад, карвакрол і тимол є основними сполуками у виді ЕО), на додаток до α -терпінену, α -цимену та борнеолу.

Mentha L. — ще один важливий рід сімейства *Lamiaceae*, який широко поширений і культивується в більшості частин світу завдяки своїй адаптації до різноманітних середовищ. Близько 42 видів і 15 гібридів підпадають під цей рід: вони зазвичай характеризуються пахучими вторинними метаболітами, які роблять його ЕО відомим. Насправді більшість видів *Mentha* промислово культивуються для виробництва ЕО. Члени роду *Mentha* виявляють велику варіабельність у хімічному складі, як внутрішньовидову, так і міжвидову, що призводить до різних хемотипів.

Таким чином, дослідники [28] виявили, що багато видів *Lamiaceae* є цінними завдяки біологічно активним сполукам, які вони містять. Вони широко поширені по всьому Середземномор'ю і в даний час культивуються в більшості частин світу. Багато з них дають значні кількості ЕО (до 8%), багатих на терпени, які вважаються важливими в алелопатичних взаємодіях і, таким чином, можуть мати потенціал як біогербіциди. З цією метою все ще необхідна значна кількість досліджень технічних аспектів, таких як вивчення механізму дії, розуміння селективності, вивчення побічних ефектів на корисні рослини та вивчення інноваційних рецептур для ефективного застосування. Крім того, необхідні дослідження для оцінки витрат і вигод і визначення цільового значення для культур класу, а також впливу виробництва на навколишнє середовище.

Біогербіциди на основі рослинних вірусів

Рослинні віруси також мають великий потенціал в сфері біопестицидів [28]. Вони мають свої особливості, унікальні механізми ураження та дії. Загалом, механізми дії вірусів можливо розділити на 3 основні шляхи дії.

1. Змінена експресія генів

Віруси рослин можуть перешкоджати експресії генів рослин-господарів і, в деяких випадках, бур'янів. Таким чином вони порушують основні фізіологічні процеси, необхідні для росту бур'янів. Це втручання може призвести до зниження регуляції ключових генів, відповідальних за розвиток і виживання бур'янів. Цей механізм забезпечує цілеспрямований і специфічний

підхід до боротьби з бур'янами, оскільки в першу чергу впливає на небажані види рослин, не завдаючи шкоди нецільовим рослинам.

2. Фізіологічні порушення

Цей механізм полягає в прямому порушенні життєво важливих фізіологічних процесів у бур'янах. Рослинні віруси можуть впливати на транспортування поживних речовин і води всередині рослин-бур'янів, що призводить до затримки росту, в'янення та зрештою загибелі. Цей підхід використовує специфічну взаємодію між вірусом і видами бур'янів, зводячи до мінімуму шкоду іншій рослинності поблизу.

3. Конкурентне виключення

Деякі віруси рослин можуть створити конкурентну перевагу в рослинах-господарях, ефективно випереджаючи бур'яни за необхідні ресурси. Монополізуючи поживні речовини та простір у хазяїні, вірус зменшує ресурси, доступні бур'яну, що призводить до його пригнічення.

Ці механізми, окремо чи в поєднанні, пропонують точні та екологічно відповідальні засоби управління популяціями бур'янів. Віруси рослин можуть ефективно вражати конкретні види бур'янів, щадячи нецільові рослини та зменшуючи потребу в хімічних гербіцидах широкого спектру дії.

Віруси рослин часто є високоспецифічними до цільової рослини. Вони розроблені або відібрані для зараження та впливу на певні види бур'янів, залишаючи нецільові рослини неушкодженими. Ця специфічність є важливою, оскільки ми намагаємося вирішити основну з проблем хімічних пестицидів – токсичний вплив на вирощувану рослину. Точність біогербіцидів на основі вірусів рослин у націленні на конкретні види бур'янів гарантує, що сусідні нецільові рослини залишаться непошкодженими. Цей цілеспрямований підхід узгоджується з принципами сталого сільського господарства та інтегрованої боротьби з бур'янами, оскільки він мінімізує порушення навколишньої екосистеми.

Вибірковість та безпечність гербіцидів на основі рослинних вірусів робить їх перспективною та екологічно чистою альтернативою хімічним гербіцидам. Вони дозволяють точно боротися з бур'янами, зменшують ризик нецільової шкоди та сприяють більш стійкому та екологічно відповідальному підходу до сільського господарства.

Щоб використати весь потенціал рослинних вірусів як біогербіцидів, дослідники звернулися до методів генетичної модифікації, щоб підвищити їхні гербіцидні властивості, одночасно забезпечуючи їх безпеку та відповідність нормативним вимогам.

Генетична модифікація дозволяє вченим розробляти та адаптувати віруси рослин для конкретного впливу на певні види бур'янів. Цей підхід підвищує точність боротьби з бур'янами, мінімізуючи вплив на нецільову рослинність. Впроваджуючи або модифікуючи гени вірусу, дослідники можуть оптимізувати його здатність пригнічувати ріст і розвиток бур'янів.

Генетична модифікація також дозволяє вбудовувати механізми безпеки та регуляторні елементи в модифіковані віруси. Це гарантує, що біогербіциди є екологічно безпечними та відповідають нормативним стандартам. Контролюючи здатність вірусу зберігатися в навколишньому середовищі та його взаємодію з нецільовими рослинами, вчені можуть зменшити потенційні ризики, пов'язані з генетично модифікованими організмами.

За допомогою генетичної модифікації віруси рослин можна сконструювати так, щоб вони мали підвищену ефективність, що дає їм змогу здійснювати більший контроль над популяціями бур'янів. Ця підвищена ефективність зменшує потребу в частому застосуванні, що призводить до більш ефективної та економічно ефективної боротьби з бур'янами

Методи генетичної модифікації відіграють ключову роль у розкритті повного потенціалу вірусів рослин як біогербіцидів. Тонко налаштовуючи їхні властивості та забезпечуючи їхню безпеку, дослідники створюють потужні та екологічно чисті інструменти для стійкої боротьби з бур'янами. У наступному

розділі ми заглибимося в економічні та екологічні переваги використання рослинних вірусів як біогербіцидів.

Застосування вірусів рослин як біогербіцидів у сільському господарстві пов'язане з важливими нормативними вимогами та міркуваннями безпеки, які є вирішальними для їх відповідального застосування.

Використання біогербіцидів з використанням вірусів рослин повинно відповідати існуючій нормативній базі, що регулює використання генетично модифікованих організмів (ГМО) і пестицидів. Ці правила мають важливе значення для того, щоб розробка, тестування та комерціалізація гербіцидів на основі рослинних вірусів відповідала встановленим стандартам безпеки та екології. Відповідність нормативним вимогам гарантує, що продукти проходять ретельну оцінку потенційних ризиків і переваг.

Перед використанням будь-якого біогербіциду на основі вірусів рослин у навколишнє середовище необхідно провести комплексну оцінку впливу на навколишнє середовище. Ця оцінка допомагає визначити потенційний вплив на нецільові організми, екосистеми та навколишнє середовище в цілому. Це також допомагає виявити та пом'якшити будь-які непередбачені наслідки.

Безпечне поводження, зберігання та застосування біогербіцидів на основі вірусів рослин є найважливішими. Необхідно встановити протоколи відповідального використання цих біогербіцидів, щоб запобігти ненавмисному впливу, нещасним випадкам або забрудненню. Належна підготовка та освіта сільськогосподарських практиків і працівників є важливими для забезпечення безпечної практики.

Постійний моніторинг і звітність є ключовими аспектами безпечного використання біогербіцидів на основі вірусів рослин. Регулярна оцінка їх ефективності, безпеки та потенційного впливу на навколишнє середовище допомагає у вирішенні будь-яких проблем і внесенні необхідних коригувань у режимі реального часу. Прозоре звітування дозволяє обмінюватися даними та спільними зусиллями вдосконалювати та оптимізувати ці біогербіциди.

Врахування нормативних вимог і міркувань безпеки при розробці та застосуванні біогербіцидів на основі рослинних вірусів має важливе значення для забезпечення їх відповідального використання в сільському господарстві. Цей підхід гарантує, що потенційні екологічні та економічні переваги цих біогербіцидів збалансовані з безпекою та охороною навколишнього середовища.

Одним із майбутніх напрямків у розробці біогербіцидів на основі вірусів рослин є розширення діапазону вірусів-бур'янів. Незважаючи на те, що багато сучасних біогербіцидів показали ефективність проти певних видів бур'янів, розширення діапазону для більш широкого спектру проблемних бур'янів буде мати вирішальне значення. Це вимагає глибшого розуміння взаємодії між вірусами рослин і різними видами бур'янів, що дозволяє розвивати віруси, які можуть націлюватися на більш широкий спектр рослин.

Щоб підвищити ефективність біогербіцидів на основі вірусів рослин, майбутні дослідження можуть зосередитися на їх інтеграції з іншими методами боротьби з бур'янами. Поєднання біогербіцидів із культуральними, фізичними чи іншими нехімічними методами боротьби може сформувати комплексний підхід до боротьби з бур'янами. Такі комплексні стратегії можуть допомогти зменшити стійкість до гербіцидів і зменшити залежність від хімічних гербіцидів.

Досягнення в точному землеробстві та технології застосування відкривають захоплюючий шлях до майбутнього біогербіцидів на основі вірусів рослин. Розробка точних механізмів доставки може забезпечити застосування біогербіцидів там, де і коли це необхідно, зменшуючи втрати та оптимізуючи їхній вплив на популяції бур'янів. Безпілотники, сенсорні технології та штучний інтелект можуть зіграти певну роль у досягненні такого рівня точності.

Формулювання біогербіцидів є ще одним напрямком активних досліджень. Майбутні рецептури мають надавати пріоритет біорозкладаності, зменшенню впливу на навколишнє середовище та безпеці як для користувачів, так і для нецільових організмів. Інноваційні формули можуть підвищити

практичність і стійкість біогербіцидів на основі вірусів рослин, роблячи їх більш привабливими для широкого застосування в сільському господарстві.

Оскільки біогербіциди на основі вірусів рослин активно розвиваються, розробка чітких регуляторних шляхів і реагування на громадське сприйняття є важливими. Спільні зусилля за участю дослідників, регулюючих органів і зацікавлених сторін у промисловості повинні гарантувати, що продукти проходять ретельне тестування на безпеку та ефективність. Крім того, інформування громадськості про переваги та безпеку цих біогербіцидів має вирішальне значення для отримання визнання та підтримки їх використання.

Майбутнє біогербіцидів на основі вірусів рослин виграє від розширення глобальної співпраці та обміну знаннями. У міру розширення досліджень і розробок обмін даними та ідеями через кордони може прискорити прогрес. Міжнародне співробітництво може сприяти обміну передовим досвідом і підтримувати розробку біогербіцидів, адаптованих до різних регіонів і видів бур'янів.

Враховуючи зміну клімату та її вплив на динаміку бур'янів, розробка стійких до кліматичних умов вірусних біогербіцидів має велике значення. Дослідження того, як температура, вологість та інші фактори навколишнього середовища впливають на ефективність цих біогербіцидів, можуть допомогти забезпечити їхню надійність у різних умовах.

Щоб забезпечити успішне застосування біогербіцидів на основі рослинних вірусів у сільському господарстві, створення освітніх і навчальних програм є надзвичайно важливим. Фермери, агрономи та постачальники сільськогосподарських дорадчих послуг повинні отримати вказівки щодо правильного використання, поводження та заходів безпеки, пов'язаних із цими біогербіцидами. Добре поінформовані користувачі є ключем до ефективною та відповідальною боротьби з бур'янами.

SolviNix LC — це новий комерційний біогербіцид [29], що містить рослинний вірус як активний інгредієнт (ai). Він зареєстрований у США для

боротьби з тропічним яблуком содовим (*Solanum viarum*, TSA), інвазивним бур'яном пасовищ і лісів.

Дослідники з Флориди вирішили розробити практичний, економічний та ефективний інструмент і метод, які можна було б легко застосувати в методах боротьби з бур'янами. Це має бути досягнуто доставкою мінімальної ефективної кількості інгібітору (у дозі та швидкості). Оскільки TMGMV, як і всі рослинні віруси, потребує фізичного пошкодження рослини шляхом стирання або ран, щоб потрапити в тканини, ми розробили, зібрали та випробували чотири інструменти та кілька їх модифікацій, які одночасно стирали та наносили біогербіцид на листя. Ми також протестували два комерційно доступних гербіцидних очисника та їх модифікації для обробки окремих рослин. З інструментів, що перевірялися, обприскувачі високого тиску, або ранцевий обприскувач, або розпилювач, встановлений на всюдихід (ATV), подають гербіцид при $> 0,55$ МПа (>80 psi), забезпечували бажаний рівень знищення бур'янів (85% або вище).

Solanum viarum Dunal (тропічне содове яблуко, ТСЯ) є серйозним бур'яном на пасовищах і навколишніх лісах у США та кількох інших країнах. Це вид, який походить з Аргентини, Бразилії, Парагваю та Уругваю, і в США його визнано шкідливим бур'яном (e-CFR, Частина 360 Правил щодо шкідливих бур'янів, 2020). Після появи у Флориді в 1984 році TSA швидко поширився в кількох південно-східних штатах США в 1990-х роках (CABI, 2020). Після кількох років скоординованого, агресивного управління цими штатами ТСЯ тепер обмежено Флоридою, де це повторювана проблема на пасовищах великої рогатої худоби та навколишніх лісах.

У пошуках біологічного засобу боротьби з ТСЯ дослідники виявили незвичайний, але раніше відомий феномен системного некрозу, спричиненого вірусом, який постійно вбивав цю рослину. Вірус є природним (неінженерним, немодифікованим) вірусом м'якої зеленої мозаїки тютюну, штам U2 (TMGMV U2). У грудні 2014 року Агентство з охорони навколишнього середовища США

(EPA) надало необмежену реєстрацію продукту SolviNix LC як біогербіциду для ТСЯ та TMGMV U2 як активного інгредієнта гербіциду (ai). Це перший у світі приклад активного інгредієнта гербіциду, який є рослинним вірусом. Щоб зібрати пакет реєстраційних даних, дослідники дослідили біологію взаємодії хазяїн-вірус, секвенували ізолят зареєстрованого штаму, скринінгували 435 видів рослин, щоб окреслити діапазон хазяїв вірусу, і розробили процес масового виробництва вірусу для комерційне використання.

Дослідники розробили та випробували кілька інструментів і методів для польового застосування. Цей метод мав бути практичним, ефективним і легко інтегруватися в практику боротьби з бур'янами. Оскільки TMGMV, як і всі рослинні віруси, потребує фізичного пошкодження рослини через стирання або рани, щоб проникнути в тканини рослини, завдання полягало в тому, щоб розробити інструмент, який одночасно стирає та наносить біогербіцид на листя. Це повинно бути досягнуто шляхом доставки мінімальної ефективної кількості а.і. (у дозі та нормі), щоб зробити гербіцид економічним та екологічно прийнятним.

Вірус м'якої зеленої мозаїки тютюну (TMGMV) (наукова назва: тобамовірус м'якої зеленої мозаїки тютюну, є різновидом *Tobamovirus*. Раніше він називався вірусом тютюнової мозаїки U2 (TMV U2) і поширений у всьому світі, де росте тютюн (*Nicotiana glauca* Graham), випадковий декоративний і частіше натуралізований бур'ян, а також культивований тютюн, *N. tabacum* L., вирощуються.

Як зрозуміло з назви, TMGMV викликає м'який симптом мозаїки у тютюну порівняно з близькоспорідненим TMV. Крім того, у порівнянні з TMV, TMGMV атакує менше хостів (вужчий діапазон господарів) (Description of Plant Viruses [DPV], 2020).

На відміну від вірусів тварин, які інфікують своїх хазяїв через рецептори на клітинах хазяїна, щоб TMGMV був ефективним як біогербіцид, частинки вірусу (ai у біогербіциді) повинні бути введені в живі клітини ТСЯ через

мікроскопічні або макроскопічні ушкодження клітинних стінок. Потім вірус може інфікувати клітини, розмножуватися та переходити від клітини до клітини, викликаючи системний летальний некроз, форму важкої гіперчутливої реакції на вірус від ТСЯ (Charudattan and Hiebert, 2007).

TMGMV та інші тобамовіруси називають вірусами «механічної передачі». Вони не мають відомих природних переносників, таких як членистоногі або нематоди, які передають вірус, і їх необхідно фізично защепити в клітини рослин, щоб викликати захворювання. У невеликих масштабах у лабораторії та теплиці застосовують протирання окремих листків шматком стерильної марлі, змоченою в екстракті вірусу, що недоцільно використовувати в польових умовах. Отже, необхідно було розробити та випробувати нове обладнання або модифікувати звичайні аплікатори гербіцидів.

Дослідники знайшли, що SolviNix LC надійно забезпечує >85% знищення ТСЯ при точковому розпиленні за допомогою ранцевого розпилювача високого тиску (> 0,55 МПа), що робить цей метод найбільш практичним поміж розглянутих. SolviNix LC працює ефективно та задовільно при комерційному використанні.

Отже, активний розвиток органічного землеробства вимагає пошук сучасних доступних природних цілей для розробки ефективних і доступних біогербіцидів. Світовими дослідженнями за останні 20 років виділено і реалізуються 3 перспективних напрямки у сфері препаратів гербіцидної природи біологічного походження:

1. препарати, що включають потенційні біогербіцидні властивості алелопатичних речовин, що містяться у лікарських та ароматичних рослинах;
2. інкрустація насіння культурних рослин комплексними поліфункціональними препаратами, що містять набір фунгіцидів, інсектицидів та антидотів;
3. біогербіциди на основі мікробного комплексу.

На території України на сьогодні дозволено і реалізується лише 2 напрямки, що стосуються алелопатичних властивостей та біопрепарати на основі мікробних комплексів. Нажаль жодного вітчизняного біогербіциду виділеної групи немає, проте дослідження які проводяться у межах польових робіт формують актуальність даного напрямку. Так, **метою роботи** є визначення потенційної фітотоксичної дії біогербіциду Камперіко (Японія) у посівах злакових культур.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили у 2023-2024 рр. у межах лабораторного дослідження експериментальної лабораторії відділу фізіології дії гербіцидів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (науковий керівник – к.б.н., с.н.с. Паланиця М.П.). Об'єктами дослідження слугували модельні рослини родини Тонконогові – метлюг звичайний (*Apera spica-venti*), які вирощували у вегетаційних посудинах із субстратом – чорнозем середньогумусний, який характеризувався такими агрохімічними показниками: вміст гумусу за Тюрнімом – 3,17%, рухомий фосфор і обмінний калій за Чіріковим 9,4 і 10,9 мг на 100 г ґрунту відповідно, сольове рН – 6,6, ступінь насиченості основами – 87%. У якості робочого розчину використовували розчин біогербіциду Камперіко (Японія), а також для порівняння – гербіцид суцільної дії Зенкор ЛКВІД (д.р. метрибузин).

Схема дослідження: 1 варіант – Контроль (без обробки); 2 варіант – Камперіко (0,3 г/л); 3 варіант – Камперіко (0,5 г/л); 4 варіант – Зенкор ЛКВІД (0,4 г/л) і 5 варіант – Зенкор ЛКВІД (0,7 г/л).

Мікробний біогербіцид Камперіко (Японія) створений на основі *Xanthomonas campestris pv. roae* і має ряд переваг:

1. відносна безпечність для навколишнього середовища;
2. висока вибіркова токсичність;
3. безпечність для теплокровних;
4. відносна бюджетність та доступність.

Насіння *A. spica-venti* пророщували протягом 21 доби, експериментальні показники визначали на 7,14 та 21 добу. У межах кожного варіанту було висаджено по 20 дослідних посудини. На 7 добу вимірювали морфометричні показники (схожість, висоту рослин, довжину кореня та пагона), а на 21 добу оцінювали потенційну життєздатність. Оцінку дії гербіцидів на активність окисно-відновних ферментів каталази (КФ. 1.11.1.6) та пероксидази (КФ. 1.11.1.7) визначали за методикою Починка Х. М. [49], а саме активність каталази

– за кількістю розкладеного перекису водню методом титрування тіосульфатом натрію; а пероксидази – спектрофотометрично за довжини хвилі 440 нм.

Повторність дослідів – триразова. Статистичну обробку даних здійснювали у пакеті Microsoft excel (середнє арифметичне, середня помилка, довірчі межі, кореляційний та дисперсійний аналіз).

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Біогербіциди уже існують та продаються на ринку України. Загалом ці біогербіциди використовують в лісовому та садово-парковому господарстві. Деякі препарати, як Біогард використовують органічні молекули такі як оцтова кислота та триосновні карбонові кислоти для досягнення широкого спектру дії. Інший біогербіцид Weed Killer використовує продукти метаболізму грибу *phoma macrostoma*.

3.1 Морфометричні показники рослин *Apera spica-venti* за дії біогербіциду Камперіко та гербіциду Зенкор ЛКВІД

Таблиця 3.1 Потенційна життєздатність дослідних рослин за дії препаратів на 21 добу, %

Варіант досліджу	Життєздатність, %
Варіант 1 (без обробки)	19/20
Варіант 2 (Камперіко 0,3 г/л)	8/20
Варіант 3 (Камперіко 0,5 г/л)	5/20
Варіант 4 (Зенкор ЛКВІД 0,4 г/л)	13/20
Варіант 5(Зенкор ЛКВІД 0,7 г/л)	9/20

Як показано у таблиці 3.1 кількість дослідних рослин які залишалися життєздатними при внесенні біо- та хімічних гербіцидів значно зменшилась відносно контролю (без внесення препаратів), тобто у варіанті 2 і 3 (Камперіко) – 8 і 5 шт з 20 відповідно, а у варіантів 4 і 5 (Зенкор ЛКВІД) – 13 і 9 відповідно.

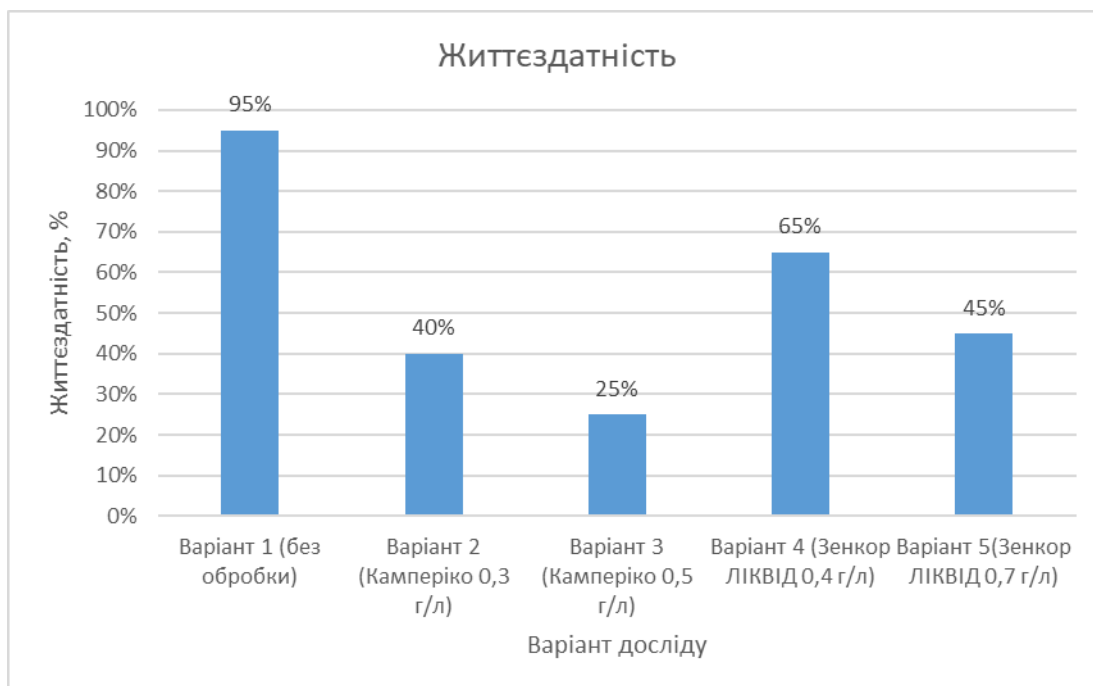


Рис. 1 Графік до таблиці 3.1 Потенційна життєздатність дослідних рослин за дії препаратів на 21 добу, %

Дослідження підтверджують ефективність даних препаратів проти однодольних бур'янів у посівах злакових, проте варто відмітити вищий відсоток загиблих рослин у варіанті із біогербицидом Камперіко у варіанті 3 (0,5 г/л). Натомість, досить високий рівень загибелі у варіанті з гербицидом Зенкор ЛІКВІД (0,7 г/л) може свідчити щодо високої токсичної дози препарату у визначеній фазі росту рослини і не може інтерпретуватися як однозначна позитивна дія. Ці результати показують, що механізм вибіркової дії біогербициду Камперіко здатний ефективніше знищувати цільовий бур'ян в порівнянні з механізмами загальної токсичної дії хімічного гербициду Зенкор ЛІКВІД. При застосуванні в польових умовах, це дозволить надійно, і без перевищень норм витрат, знищити бур'ян *A. spica-venti*.

Таблиця 3.2 Висота рослин на 7 та 14 добу, %

Варіант досліджу	Висота рослин, см	
	7 доба	14 доба

Варіант 1 (без обробки)	5,5±0,3	14,2±0,5
Варіант 2 (Камперіко 0,3 г/л)	5,3±0,2	11,2±0,6
Варіант 3 (Камперіко 0,5 г/л)	5,6±0,3	11,4±0,6
Варіант 4 (Зенкор ЛІКВІД 0,4 г/л)	5,9±0,4	12,4±0,5
Варіант 5(Зенкор ЛІКВІД 0,7 г/л)	5,8±0,3	9,1±0,4

Як видно з таблиці 3.2 при використанні різних видів препаратів на рослини *A. spica-venti* вони впливали і на висоту дослідних варіантів, тому найвища висота рослин метлюга спостерігалася на контролі (без обробки) (5,5 і 14,2 см відповідно), що підтверджує відсутність фітотоксичної дії у даному варіанті. Найнижчою висотою характеризувалися рослини у варіанті 2 (Камперіко 0,3 г/л) – 5,3 і 11,2 см відповідно, а проміжне положення зайняли варіанти 3 (Камперіко 0,5 г/л) та 4 (Зенкор ЛІКВІД 0,4 г/л). Такий ефект можна пояснити оптимальною фітотоксичною дією біопрепарату Камперіко у відповідній концентрації, що і проявлялося у зниженні росту рослин. Водночас, відмічено значне відставання у рості рослин варіанту 5 (Зенкор ЛІКВІД 0,7 г/л) на 21 добу – 9,1 см, що пояснюється надмірною токсичною дією препарату. Якщо також мати на увазі результати таблиці 3.1, то навіть за умов надмірної токсичності хімічного гербіциду Зенкор ЛІКВІД, не можна гарантувати повне знищення бур'яну. В польових умовах використання біогербіциду Камперіко може призвести до ще кращих результатів, оскільки прицільна дія гербіциду надає ще один фактор дії – вона допомагає іншим рослин, в тому числі і вирощуваній рослині, конкурувати з бур'яном за ресурсами.

Таблиця 3.3 Морфометричні показники дослідних рослин на 21 добу

Варіант досліджу	Схожість, %	Довжина кореня, мм	Довжина пагона, мм
------------------	-------------	--------------------	--------------------

Варіант 1 (без обробки)	95,0±1,5	3,2±0,6	16,2±2,5
Варіант 2 (Камперіко 0,3 г/л)	82,0±1,8	3,0±0,5	15,8±1,7
Варіант 3 (Камперіко 0,5 г/л)	55,0±3,2	3,1±0,4	13,5±2,5
Варіант 4 (Зенкор ЛКВІД 0,4 г/л)	78,0±2,5	3,2±0,6	13,7±2,5
Варіант 5(Зенкор ЛКВІД 0,7 г/л)	60,0±2,0	2,3±0,4	10,6±1,5

Результати у таблиці 3.3 показали, що у варіанті 1 (без обробки) рослини відзначалися високою енергією проростання, а також стабільним наростанням висоти кореня та пагона. При цьому, навіть найнижчі концентрації Камперіко та Зенкор ЛКВІД викликали сильний токсичний ефект на проростання насіння та висоту рослин. Водночас, у варіанті 5 (Зенкор ЛКВІД 0,7 г/л) прослідковувалася динаміка сильного фітотоксичного шоку за дії хімічного препарату, який проявлявся одночасно і низькою енергією проростання (60,0 %), і значно коротшим коренем та пагоном (2,3 та 10,6 мм відповідно).

3.2. Активність окисно-відновних ферментів пероксидази і каталази на рослини *Apera spica-venti* за дії біогербіциду Камперіко та гербіциду Зенкор ЛКВІД

Проведені дослідження щодо активності ферментів пероксидази і каталази показали суттєву залежність їх активності у рослинах *Apera spica-venti* залежно від норм внесення біогербіциду Камперіко і гербіциду Зенкор ЛКВІД (табл. 3.4).

Таблиця 3.4. Вплив препаратів Камперіко і Зенкор ЛКВІД на активність пероксидази і каталази на 14 добу

Варіант досліду	Пероксидаза, мк моль розкладеного гваяколу	Каталаза, мк моль розкладеного перекису водню

	середнє	% до контролю	середнє	% до контролю
Варіант 1 (без обробки)	75,8±8,8	100	7,8±0,6	100
Варіант 2 (Камперіко 0,3 г/л)	87,9±8,5	115,9	9,3±1,2	119,2
Варіант 3 (Камперіко 0,5 г/л)	82,5±8,2	108,9	8,6±1,4	110,3
Варіант 4 (Зенкор ЛКВІД 0,4 г/л)	96,0±8,5	126,1	10,5±1,8	129,0
Варіант 5(Зенкор ЛКВІД 0,7 г/л)	89,4±9,0	118,1	8,4±1,4	115,2

Так, при застосуванні біогербіциду Камперіко у нормі 0,3 г/л активність ферменту каталази в листках дослідних рослин на 14 добу спостереження зростала порівняно з контролем у середньому на 10,3%, а норма 0,5 г/л призводила до зростання на 8,8%. Варіанти із використанням гербіциду Зенкор ЛКВІД також показало достовірне збільшення ферменту активності каталази у варіанті 4 до 12,4 %. Проте, у варіанті 5 спостерігалось суттєво нижче зростання активності ферменту порівняно з контролем – до 9,1 %.

Аналогічна залежність прослідковувалася також між внесенням відповідної норми препарату і контролю на активність ферменту пероксидази (див. табл. 3.4). Так, у варіанті 2 та 3 активність даного ферменту достовірно зростала на 9,2% та 6,3 % проти контролю. Найсуттєвіше зростання активності ключового ферменту окисно-відновного захисту – пероксидази спостерігали у варіанті 4 із гербіцидом Зенкор ЛКВІД, де збільшення порівняно із контролем було на рівні 19,5%. Це вірогідно можна пояснити першочерговою участю даного ферменту у циклі фізіологічної відповіді рослин за дії стресу, що викликана хімічним препаратом у даній дозі, що підтверджується подальшою стабілізацією її активності порівняно із контролем.

Таким чином, застосування препаратів різних класів хімічної природи зумовлює достовірне зростання активності ферментів – пероксидази і каталази, що може свідчити щодо підвищення рівня процесів детоксикації у рослин *Apera spica-venti*, спрямованих на знешкодження токсичних для культури сполук, викликаних дією відповідних розчинів.

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано сучасну сферу використання біогербіцидів. В світі впроваджують комерційні біогербіциди, зокрема в США [48]. Перспективними є мікробні, грибні, вірусні біогербіциди, допоміжні молекули, біогербіциди що формують захисні наночастинки, та біогербіциди які використовують аллелопатичні сполуки рослин.
2. Визначено, що ключовим напрямком у дослідженнях біогербіцидів є на технології нанесення препаративної форми, а саме технологія сухого розпилювання біогербіцидів на твердій основі [6].
3. Досліджено, що використання біогербіциду Камперіко є високоефективним способом боротьби з бур'яном *Apera spica-venti*, та дозволяє боротися з шкідником не приносячи шкоди іншим рослинам, екосистемі, ґрунту, та теплокровним тваринам.
4. Показано, що біогербіцид Камперіко підвищує активність каталази та пероксидази значно менше, ніж хімічний гербіцид Зенкор ЛКВІД, що свідчить, що процеси детоксикації в бур'яні менш активізовані. Це свідчить про ефективну дію біогербіциду.

Список використаної літератури

- [1] - Станкевич, Сергій Володимирович. "Ринок пестицидів України." (2020). <https://repo.btu.kharkov.ua/handle/123456789/24158>
- [2] - Вигера, С. М., et al. "Світові тенденції розвитку ринку засобів захисту рослин." ❖ Наукове забезпечення розвитку агропромислового комплексу (2018): 100.
- [3] - Bailey, Karen L. "The bioherbicide approach to weed control using plant pathogens." *Integrated Pest Management*. Academic Press, 2014. 245-266.
- [4] - AULD, BRUCE A., SHANE D. HETHERINGTON, and HEATHER E. SMITH. "Advances in bioherbicide formulation." *Weed Biology and Management* 3.2 (2003): 61-67.
- [5] - Klaic, Rodrigo, et al. "An overview regarding bioherbicide and their production methods by fermentation." *Fungal Biomolecules: Sources, Applications and Recent Developments* (2015): 183-199.
- [6] - de Almeida, Thiago C., et al. "Development of a solid bioherbicide formulation by spray drying technology." *Agriculture* 10.6 (2020): 215.
- [7] - Serino, Nadia, et al. "Biodegradable polymers as carriers for tuning the release and improve the herbicidal effectiveness of *Dittrichia viscosa* plant organic extracts." *Pest Management Science* 77.2 (2021): 646-658.
- [8] - Zermane N, Vurro M, Boari A, Avolio F, Andolfi A and Evidente A, Towards broomrape and field dodder management using natural metabolites from plants. In: Abstract of 11th World Congress on Parasitic Plants, 7–12 June 2011, Martina Franca, Italy, p. 82. 2011.
- [9] - Andolfi A, Zermane N, Cimmino A, Avolio F, Boari A, Vurro M et al., Inuloxins A–D, phytotoxic bi- and tri-cyclic sesquiterpene lactones produced by *Inula viscosa*: potential for broomrapes and field dodder management. *Phytochemistry* 86:112–120 (2013).
- [10] - Grauso L, Cesarano G, Zotti M, Ranesi M, Sun W, Bonanom G et al., Exploring *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter phytochemical diversity to explain its

antimicrobial, nematocidal and insecticidal activity. *Phytochem Rev* 19:659–689 (2019).

[11] - Grauso L, Cesarano G, Zotti M, Ranesi M, Sun W, Bonanom G et al., Exploring *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter phytochemical diversity to explain its antimicrobial, nematocidal and insecticidal activity. *Phytochem Rev* 19:659–689 (2019).

[12] - Dor E and Hershenhorn J, Allelopathic effects of *Inula viscosa* leaf extracts on weeds. *Allelopathy J* 30:281–289 (2012).

[13] - Luft, Luciana, et al. "Different techniques for concentration of extracellular biopolymers with herbicidal activity produced by *Phoma* sp." *Environmental Technology* 42.9 (2021): 1392-1401.

[14] - BeMiller J. *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*. Elsevier: Cambridge. 2018, 440p.

[15] - Yildiz H, Karatas N. Microbial exopolysaccharides: Resources and bioactive properties. *Process Biochem.* 2018;72:41–46.

[16] - Donot F, Fontana A, Baccou JC, et al. Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydr. Polym.* 2012;87:951–962.

[17] - Flemming H, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat. Publ. Gr.* 2010;8:623–633.

[18] - Todero I, Confortin TC, Luft L, et al. Concentration of exopolysaccharides produced by *Fusarium fujikuroi* and application of bioproduct as an effective bioherbicide. *Environ. Technol.* 2019; DOI: <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1580775>.

[19] - Prijović, Mladen P., et al. "Water emulsion of the essential oil of *Nepeta rtanjensis* Diklić & Milojević: Potential use as a bioherbicide." *Archives of Biological Sciences* 00 (2023): 41-41.

[20] - Diklic N, Milojević B. *Nepeta rtanjensis* Diklic et Milojevic spec. nov.-nova vrsta iz roda *Nepeta* L. Bull du Museum d'Histoire Nat Belgrade, Ser B, Livre. 1976;31:23-35.

[21] – Mutlu S, Atici Ö, Esim N, Mete E. Essential oils of catmint (*Nepeta meyeri* Benth.) induce oxidative stress in early seedlings of various weed species. *Acta Physiol Plant*. 2011;33(3):943-51. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0626-3>

[22] – Mutlu S, Atici O, Esim N. Bioherbicidal effects of essential oils of *Nepeta meyeri* Benth. on weed spp. *Allelopath J*. 2010;26(2):291-300.

[23] – Kordali S, Tazegul A, Cakir A. Phytotoxic effects of *Nepeta meyeri* Benth. extracts and essential oil on seed germinations and seedling growths of four weed species. *Rec Nat Prod*. 2015;9(3):404-18.

[24] – Singh, Parmeet, et al. "Formulation, characterization and evaluation of encapsulated bioherbicide on *Echinochloa crus-galli* and *Phalaris minor*." (2021): 50-54.

[25] – Vishwakarma, Gajendra Singh, et al. "Polymeric encapsulates of essential oils and their constituents: A review of preparation techniques, characterization, and sustainable release mechanisms." *Polymer reviews* 56.4 (2016): 668-701.

[26] – Azin Taban, Mohammad Jamal Saharkhiz, Mohammad Khorram, Formulation and assessment of nano-encapsulated bioherbicides based on biopolymers and essential oil, *Industrial Crops and Products*, Volume 149, 2020, 112348, ISSN 0926-6690, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112348>.

[27] – Yi Lv, Fan Yang, Xueying Li, Xiaoming Zhang, Shabbar Abbas, Formation of heat-resistant nanocapsules of jasmine essential oil via gelatin/gum arabic based complex coacervation, *Food Hydrocolloids*, Volume 35, 2014, Pages 305-314, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.003>.

[28] - De Mastro, Giuseppe, Jihane El Mahdi, and Claudia Ruta. "Bioherbicidal potential of the essential oils from Mediterranean Lamiaceae for weed control in organic farming." *Plants* 10.4 (2021): 818.

[29] – Atak, M.; Mavi, K.; Uremis, I. Bioherbicidal effects of oregano and rosemary essential oils on germination and seedling growth of bread wheat cultivars and weeds. *Rom. Biotechnol. Lett.* 2016, 21, 11149–11158.

[30] – Hazrati, H.; Saharkhiz, M.J.; Moein, M.; Khoshghalb, H. Phytotoxic effects of several essential oils on two weed species and Tomato. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2018, 13, 204–212.

[31] – Cavalieri, A.; Caporali, F. Effects of essential oils of cinnamon, lavender and peppermint on germination of Mediterranean weeds. *Allelopath. J.* 2010, 25, 1–5.

[32] – Greenland, D.J. Nitrate fluctuations in tropical soils. *J. Agric. Sci.* 1958, 50, 82–92.

[33] – Al-Mariri, A.; Safi, M. In Vitro Antibacterial Activity of Several Plant Extracts and Oils against Some Gram-Negative Bacteria. *Iran. J. Med Sci.* 2014, 39, 36–43.

[34] – Elisha, I.L.; Botha, F.S.; McGaw, L.J.; Eloff, J.N. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. *BMC Complement. Altern. Med.* 2017, 17, 1–10.

[35] – Mostafa, A.A.; Al-Askar, A.A.; Almaary, K.S.; Dawoud, T.M.; Sholkamy, E.N.; Bakri, M.M. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi, J. Biol. Sci.* 2018, 25, 361–366.

[36] – Menzies, J.D.; Gilbert, R.G. Responses of the Soil Microflora to Volatile Components in Plant Residues. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1967, 31, 495–496.

[37] – Rice, E.L. *Allelopathy*, 2nd ed.; Rice, E.L., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 1984; pp. 8–344.

[38] – Blum, U. Fate of phenolic allelochemicals in soils—The role of soil and rhizosphere microorganisms. In *Allelopathy: Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals*; Macías, F.A., Galindo, J.C.G., Molinillo, J.M.G., Cutler, H.G., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2004; pp. 57–76.

[39] – Emarmulla, R.; Eharder, J. Microbial monoterpene transformations—A review. *Front. Microbiol.* 2014, 5, 346.

[40] – Alipour, M.; Saharkhiz, M.J.; Niakousari, M.; Damyeh, M.S. Phytotoxicity of encapsulated essential oil of rosemary on germination and morphophysiological features of amaranth and radish seedlings. *Sci. Hortic.* 2019, 243, 131–139.

[41] – Kokkini, S.; Karousou, R.; Hanlidou, E. HERBS|Herbs of the Labiatae. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 2nd ed.; Caballero, B., Ed.; Academic Press: Oxford, UK, 2003; pp. 3082–3090.

[42] – Da Mastro, G.; Fracchiolla, M.; Verdini, L.; Montemurro, P. Oregano and its Potential Use as Bioherbicide. *Acta Hortic.* 2006, 723, 335–346.

[43] – Figiel, A.; Szumny, A.; Gutiérrez-Ortiz, A.; Carbonell-Barrachina, Á.A. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. *J. Food Eng.* 2010, 98, 240–247.

[44] – Teixeira, B.; Marques, A.; Ramos, C.; Serrano, C.; Matos, O.; Neng, N.R.; Nogueira, J.M.F.; Saraiva, J.A.; Nunes, M.L. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *J. Sci. Food Agric.* 2013, 93, 2707–2714.

[45] – Ibáñez, M.D.; Blázquez, M.A. Herbicidal value of essential oils from oregano-like flavour species. *Food Agric. Immunol.* 2017, 28, 1168–1180.

[46] – Hanana, M.; Mansour, M.B.; Algabr, M.; Amri, I.; Gargouri, S.; Romane, A.; Jamoussi, B.; Hamrouni, L. Potential use of essential oils from four Tunisian species of Lamiaceae: Biological alternative for fungal and weed control. *Rec. Nat. Prod.* 2017, 11, 258–269.

[47] - Hamid, Muhammad Rizwan, and Shahzeen Kanwal Maria. "Harnessing nature's tiny warriors: Plant viruses as innovative bioherbicides." *Trends in Horticulture* 6.2 (2023): 3146.

[48] - Charudattan, Raghavan, et al. "Design and testing of field application tools for a bioherbicide with a plant virus as active ingredient." *Weeds-Journal of the Asian-Pacific Weed Science Society* (2020): 34-45.

[49] Карпенко В. П., Павлишин С. В. Активність антиоксидантних ферментів у рослинах пшениці полби звичайної за дії гербіциду Пріма Форте 195 і регулятора росту рослин Вуксал Біо Vita. Вісник аграрної науки Причорномор'я. 2018. Вип. 3. С. 61–65 *Physiol Plant*. 2015;37(3):64. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1810-2>