

Оригинальная статья / Original article

УДК 632.66/.69

DOI: 10.18470/1992-1098-2024-4-11



Первичный скрининг аборигенных бактерий-антагонистов в отношении личинок *Meloidogyne hapla*

Светлана Н. Нековаль, Максим Н. Чернякович, Вячеслав С. Муравьев, Арина К. Чурикова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (ФГБНУ ФНЦБЗР), Краснодар, Россия

Контактное лицо

Светлана Н. Нековаль, ведущий научный сотрудник, Федеральный научный центр биологической защиты растений; 350039 Россия, г. Краснодар, п/о-39.

Тел. +79034551103

Email s.nekoval@yandex.ruORCID <https://orcid.org/0000-0003-4217-3156>**Формат цитирования**Нековаль С.Н., Чернякович М.Н., Муравьев В.С., Чурикова А.К. Первичный скрининг аборигенных бактерий-антагонистов в отношении личинок *Meloidogyne hapla* // Юг России: экология, развитие. 2024. Т.19, N 4. С. 137-148. DOI: 10.18470/1992-1098-2024-4-11

Получена 14 мая 2024 г.

Прошла рецензирование 17 июня 2024 г.

Принята 15 октября 2024 г.

Резюме

Цель – определить нематическую активность аборигенных изолятов бактерий выделенных из ризосферы пораженных томатов северной галловой нематодой *Meloidogyne hapla*.

Исследование проводилось с использованием бактериальных изолятов, полученных из ризосферы томата, пораженного мелойдогинозом, видовая принадлежность которых была определена при помощи анализа нуклеотидной последовательности ДНК. Анализ проводили на приборе DNeasy Plant Mini Kit и идентифицировали полученные результаты с использованием программы Unipro UGENE. Нематическая активность рассчитывалась исходя из количества мёртвых особей нематод, посчитанных с использованием микроскопа.

Из ризосферы томатов, пораженных северной галловой нематодой *Meloidogyne hapla*, выделено в чистую культуру и идентифицировано 10 изолятов бактерий-антагонистов. Учитывая безопасность для человека и теплокровных животных, 7 из них проверили на нематическую активность. Согласно полученным данным, применение 5 исследуемых штаммов бактерий вызывало массовую смертность личинок северной галловой нематоды, начиная с 24 часов и к 96 часам после закладки опыта достигла 92,2–97,2 %.

Штаммы бактерий *Bacillus thuringiensis* ИБ17 (титр 1×10^5 , КОЕ/мл), *Pseudomonas silesiensis* ИБ18 (титр 1×10^6 , КОЕ/мл), *Bacillus mycoides* ИБ19 (титр 1×10^8 , КОЕ/мл), *Glutamicibacter arilaitensis* ИБ23 (титр 1×10^6 , КОЕ/мл), *Pseudomonas silesiensis* ИБ24 (титр 1×10^7 , КОЕ/мл) проявляют высокую нематическую активность в отношении личинок *M. hapla* и могут быть использованы для создания бионематических.

Ключевые слова*Meloidogyne hapla*, нематоды, секвенирование, бактериальные изоляты, выживаемость нематод, ПЦР-анализ.

Primary screening of indigenous antagonist bacteria against *Meloidogyne hapla* larvae

Svetlana N. Nekoal, Maxim N. Chernyakovich, Vyacheslav S. Muraviev and Arina K. Churikova

Federal Scientific Centre of Biological Plant Protection (FSBSI FSCBPP), Krasnodar, Russia

Principal contact

Svetlana N. Nekoal, Leading Researcher, Federal Scientific Centre for Biological Plant Protection, P.O. 39, Krasnodar, Russia 350039.

Tel. +79034551103

Email s.nekoal@yandex.ru

ORCID <https://orcid.org/0000-0003-4217-3156>

How to cite this article

Nekoal S.N., Chernyakovich M.N., Muraviev V.S., Churikova A.K. Primary screening of indigenous antagonist bacteria against *Meloidogyne hapla* larvae. *South of Russia: ecology, development*. 2024; 19(4):137-148. (In Russ.) DOI: 10.18470/1992-1098-2024-4-11

Received 14 May 2024

Revised 17 June 2024

Accepted 15 October 2024

Abstract

Aim. To determine the nematocidal activity of native bacterial isolates from the rhizosphere of tomatoes affected by the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla*.

The study was carried out using bacterial isolates obtained from the rhizosphere of a tomato affected by meloidogynosis, the species of which was determined using DNA nucleotide sequence analysis. The analysis was carried out on a DNeasy Plant Mini Kit and the results were compared using the Unipro UGENE program. Nematicidal activity was calculated based on the number of dead nematodes counted using a microscope.

From the rhizosphere of tomatoes infected with the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla*, 10 isolates of antagonist bacteria were isolated into a pure culture and identified. To consider their safety for humans and warm-blooded animals, 7 of these were tested for nematocidal activity. According to the data obtained, the use of 5 studied bacterial strains caused mass mortality of northern root-knot nematode larvae, starting from 24 hours and reaching 92.2–97.2 % by 96 hours after the start of the experiment.

Bacterial strains *Bacillus thuringiensis* IB17 (titer 1×10^5 , CFU/ml), *Pseudomonas silesiensis* IB18 (titer 1×10^6 , CFU/ml), *Bacillus mycoides* IB19 (titer 1×10^8 , CFU/ml), *Glutamicibacter arilaitensis* IB23 (titer 1×10^6 , CFU/ml), *Pseudomonas silesiensis* IB24 (titer 1×10^7 , CFU/ml) exhibits high nematocidal activity against *M. hapla* larvae and can be used to create bionematicides.

Key Words

Meloidogyne hapla, nematicides, sequencing, bacterial isolates, nematode survival, PCR analysis.

ВВЕДЕНИЕ

Нематоды – одна из многочисленных групп живых организмов, обитающих в почве. Они участвуют в её минерализации и круговороте биомассы, имеют большое влияние на другие организмы [1]. В целом, появление в почве нематод положительно сказывается на состоянии экосистемы, но фитопаразитические виды подавляют развитие культурных растений. Наиболее распространённым видом фитопатопаразитических нематод является северная галловая нематода *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949 [2]. В России распространена повсеместно от центральных областей до предгорий Кавказа. В мире ареал обитания охватывает Европу, Канаду, США, Южную Америку, Центральную и Южную Африку [2; 3]. Вредоносность *M. hapla* заключается в блокировке тока питательных веществ через проводящую систему. Этот вид нематод стимулирует развитие патогенных инфекций, в результате их проникновения через повреждённую кутикулу растения [4]. Личинки второго возраста мигрируют через почву с корнями поражённого растения на здоровое. Инвазируя корни культурных и дикорастущих растений открытого и защищённого грунтов, образуют галлы или сингаллы [5]. Учитывая особенности жизненного цикла *Meloidogyne hapla*, почвенные микроорганизмы, обладающие нематодической активностью, будут эффективны для контроля и борьбы с данным фитопаразитом [6; 7].

С целью уменьшения химической нагрузки на биосферу, при борьбе с нематодами всё чаще прибегают к препаратам биологического происхождения. Среди патогенов нематод известно множество инфекций бактериального происхождения, что позволяет создавать нематодические биопрепараты на их основе.

Одним из главных механизмов нематотоксичности бактерий является действие продуктов метаболизма бактерий, представленных родами *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pasteuria*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Serratia* и *Hirsutiella*.

Среди соединений с нематодической активностью известны вторичные метаболиты, принадлежащие к таким классам органических соединений, как хинины, алкалоиды, терпеноиды, пептиды и нафталины [8–18]. Обнаружено, что бактерии родов *Bacillaceae*, *Serratia*, *Corynebacterium* и *Stenotrophomonas* обладают способностью к продуцированию ряда литических ферментов, влияющих на различные этапы жизненного цикла нематод [19]. Бактерии могут продуцировать сурфактин, бацилломицин D, фенгигин, итурин и бактериоцин. Данные липопептиды вызывают повреждение белковой структуры яиц и кутикулы нематод. Продуцируемые бактериями ферменты, за счёт активизации биосинтеза гормонов фитоалексинов и фенольных соединений, стимулируют повышение устойчивости растений к фитопатогенам [19; 20]. Hussain T. et al. отмечено, что антибиотики, внеклеточные ферменты и другие токсичные соединения, присутствующие в культуральной жидкости штамма *B. subtilis* Hussain T-AMU значительно увеличивает смертность личинок J2 и подавляет откладку яиц по сравнению с контролем [21].

Таким образом, благодаря метаболитам, выделяемым бактериями во внешнюю среду, многие из них могут быть эффективны в борьбе с галловой

нематодой в сельском хозяйстве и поиск новых бактерий-антагонистов является важной задачей для достижения этой цели.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования послужила северная галловая нематода *Meloidogyne hapla*, из коллекции лаборатории биорациональных средств и технологий защиты растений для ведения экологизированного, ресурсосберегающего и органического сельского хозяйства, ФГБНУ ФНЦБЗР. Выделение аборигенных бактерий из ризосферы растений томата проводили по методике, описанной Безлером, Хуссейном и Петюренко [22]. Морфологию полученных изолятов бактерий описывали с использованием окраски по Граму [23].

Для определения видовой принадлежности выделенных изолятов бактерий проводили анализ нуклеотидной последовательности ДНК образцов с использованием прибора DNeasy Plant Mini Kit компании QIAGEN согласно методике, описанной в протоколе изготовителя. В процессе определения из бактериальных изолятов выделяли ДНК и производили секвенирование её определённых областей. Затем выполняли ПЦР-анализ с использованием праймеров. Параметры ПЦР были следующими: 95 °С – 2 мин, далее 30 циклов: 95 °С – 30 сек, 60 °С – 30 сек, 72 °С – 1 мин, после чего проводили финальную элонгацию при 72 °С в течение 5 мин.

Продукты амплификации разделяли в 2 % ТАЕ-агарозном геле, после чего ДНК-бенды вырезали и очищали по протоколу, приложенному к набору реактивов MinElute PCR Purification (QIAGEN). Секвенирование выполняли на генетическом анализаторе ABI3130xl по методу Сэнгера с использованием прямого и обратного праймеров.

Проверку исходных файлов для наиболее удачных результатов секвенирования проводили при помощи программы Unipro UGENE. С использованием стандартных параметров в базе данных GenBank NCBI осуществляли поиск последовательностей и их видовую идентификацию. Выравнивание последовательностей и поиск полиморфных участков выполняли с использованием Clustal Omega, а кластеризацию генотипов – в программе MEGA-X по параметрам UPGMA.

Первичную оценку нематодической активности аборигенных штаммов бактерий в отношении *Meloidogyne hapla* проводили по методике Конрат и др [24]. Данный способ позволяет оценить смертность нематод, исключая нематостатический эффект, за счёт дополнительного фильтрования суспензии нематод спустя 96 часов после начала опыта. Стерильной одноразовой пипеткой, суспензию нематод объемом 1,0 мл, содержащую 50 шт. *M. hapla* вносили в чашки Петри (ЧП) диаметром 35 мм в 4-х повторностях. После внесения нематод в каждую ЧП, добавляли 1,0 мл исследуемых бактерий и оставляли при температуре 25 °С. Учёт мёртвых и живых нематод производили с использованием микроскопа «Nexcore NE 700» через 24 часа, 48 часов, 72 часа после начала опыта и через 24 часа после фильтрации нематод [24; 25].

Смертность нематод на каждые сутки была рассчитана по формуле Шнайдера-Орелли:

$$C = (C_b - C_k) / (100 - C_k) * 100,$$

где C – смертность нематод (%); C_v – смертность в варианте (%); C_k – смертность в контроле [24; 25].

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 10.0.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

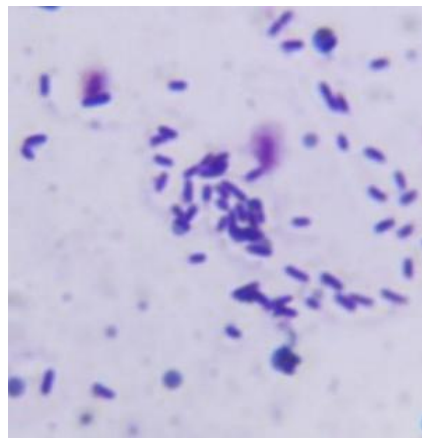
Всего выделено в чистую культуру и описано 10 изолятов бактерий-антагонистов, которые были внесены в рабочую коллекцию лаборатории с присвоением последовательных номеров. Бактериаль-

ные колонии имели белый цвет, при этом встречались как почти прозрачные, так и практически непрозрачные колонии. Микроскопирование позволило обнаружить только бактерии палочковидной формы, которые отличались по размеру, спорообразованию и окраске по Граму.

Колония изолята ИБ16 прозрачная, белого цвета, круглой формы, выпуклая, край колонии гладкий, поверхность колонии гладкая, блестящая, диаметр – 3–4 мм. Короткие палочки, одиночные, без спор, грамположительные (рис. 1).



a



b

Рисунок 1. Изолят ИБ16. а – Колонии на ГРМ; b – Микроструктуры
Figure 1. Isolate IB16. a – Colonies on GRM; b – Microstructures

Колония изолята ИБ17 не прозрачная, белого цвета, круглой формы, выпуклая, край колонии волнистый, поверхность колонии гладкая, блестящая, диаметр – 1–2 мм. Короткие палочки, одиночные, без спор, грамотрицательные (рис. 2).

Колония изолята ИБ18 прозрачная, белого цвета, круглой формы, выпуклая, край колонии волнистый, поверхность колонии гладкая, блестящая, диаметр – 2–3 мм. Короткие палочки, одиночные, без спор, грамотрицательные (рис. 3).

Колония изолята ИБ19 не прозрачная, белого цвета, круглой формы, выпуклая, край колонии волнистый, поверхность колонии гладкая, блестящая,

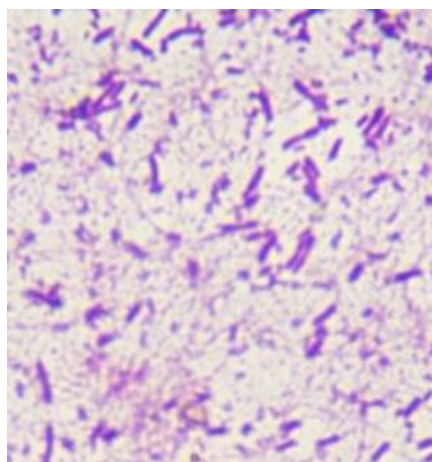
диаметр – 1–2 мм. Длинные палочки, собранные в цепочки, без спор, грамположительные (рис. 4).

Колония изолята ИБ20 не прозрачная, белого цвета, круглой формы, плоская, край колонии гладкий, поверхность колонии гладкая, блестящая, диаметр – 1–2 мм. Палочки, расположены цепочками и одиночно, образуют споры, грамположительные (рис. 5).

Колония изолята ИБ21 непрозрачная белого цвета, неправильной формы, выпуклая, край колонии зубчатый, поверхность гладкая, блестящая, диаметр – 3–5 мм. Мелкие (средние) палочки, расположены цепочками и одиночно, имеются споры, грамположительные (рис. 6).



a



b

Рисунок 2. Изолят ИБ17. а – Колонии на ГРМ; b – Микроструктуры
Figure 2. Isolate IB17. a – Colonies on GRM; b – Microstructures

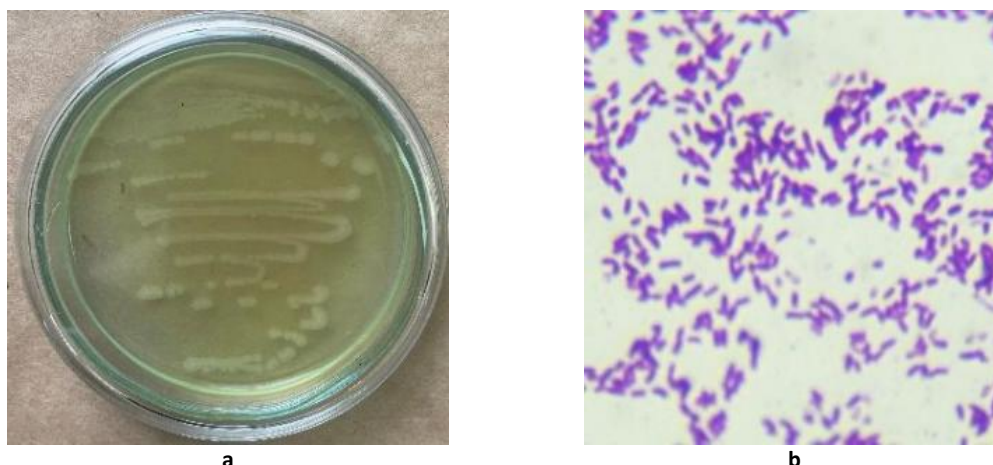


Рисунок 3. Изолят ИБ18. а – Колонии на ГРМ; б – Микроструктуры
Figure 3. Isolate IB18. a – Colonies on GRM; b – Microstructures



Рисунок 4. Изолят ИБ19. а – Колонии на ГРМ; б – Микроструктуры
Figure 4. Isolate IB19. a – Colonies on the GRM; b – Microstructures

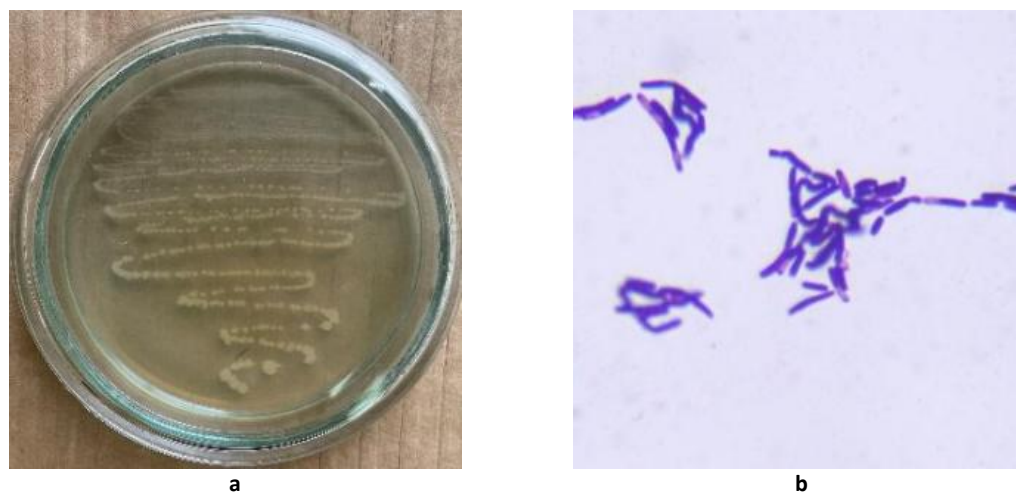


Рисунок 5. Изолят ИБ20. а – Колонии на ГРМ; б – Микроструктуры
Figure 5. Isolate IB20. a – Colonies on GRM; b – Microstructures

Колония изолята ИБ22 непрозрачная белого цвета, неправильной формы, выпуклая, край колонии волнистый, поверхность гладкая, блестящая, диаметр – 3–5 мм. Мелкие палочки, расположены цепочками и одиночно, без спор, грамположительные (рис. 7).

Колонии изолята ИБ23 белого цвета круглые с шероховатой поверхностью, образуют длинные нити мицелия. Грамположительные актиномицеты (рис. 8).

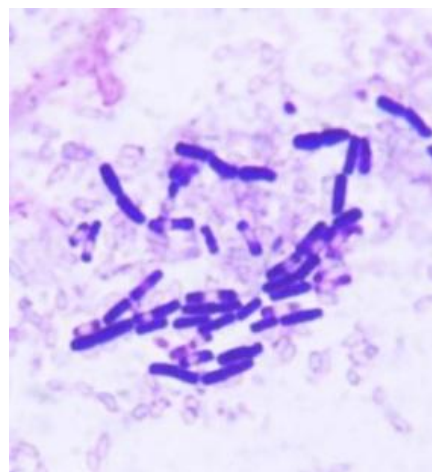
Колония изолята ИБ24 непрозрачная белого цвета, неправильной формы, выпуклая, край колонии

волнистый, поверхность гладкая, блестящая, диаметр – 1–2 мм. Длинные палочки, одиночные по 2, имеются споры, грамположительные (рис. 9).

Колония изолята ИБ25 не прозрачная, белого цвета, круглой формы, плоская, край колонии гладкий, поверхность колонии гладкая, блестящая, диаметр – 1–2 мм. Мелкие палочки, одиночные и цепочками, имеются споры, грамположительные (рис. 10).



a

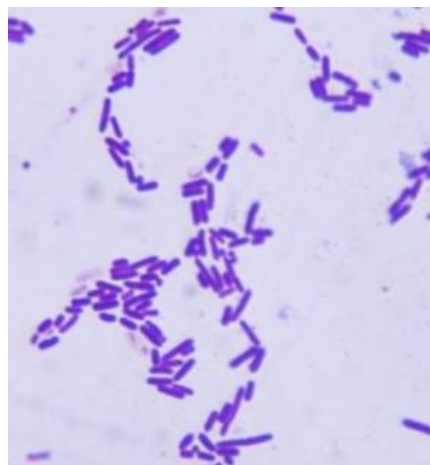


b

Рисунок 6. Изолят ИБ21. а – Колонии на ГРМ; б – Микроструктуры
Figure 6. Isolate IB21. a – Colonies on GRM; b – Microstructures



a

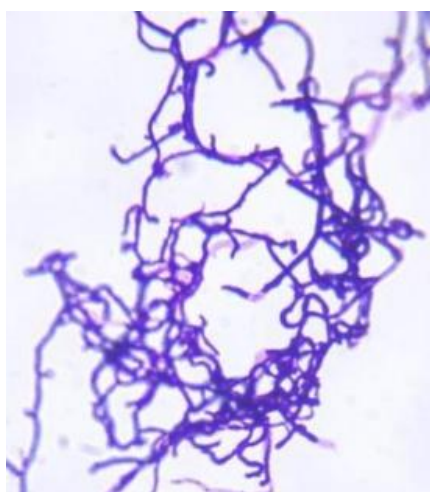


b

Рисунок 7. Изолят ИБ22. а – Колонии на ГРМ; б – Микроструктуры
Figure 7. Isolate IB22. a – Colonies on GRM; b – Microstructures



a



b

Рисунок 8. Изолят ИБ23. а – Колонии на ГРМ; б – Микроструктуры
Figure 8. Isolate IB23. a – Colonies on GRM; b – Microstructures



Рисунок 9. Изолят ИБ24. а – Колонии на ГРМ; b – Микроструктуры
Figure 9. Isolate IB24. a – Colonies on GRM; b – Microstructures

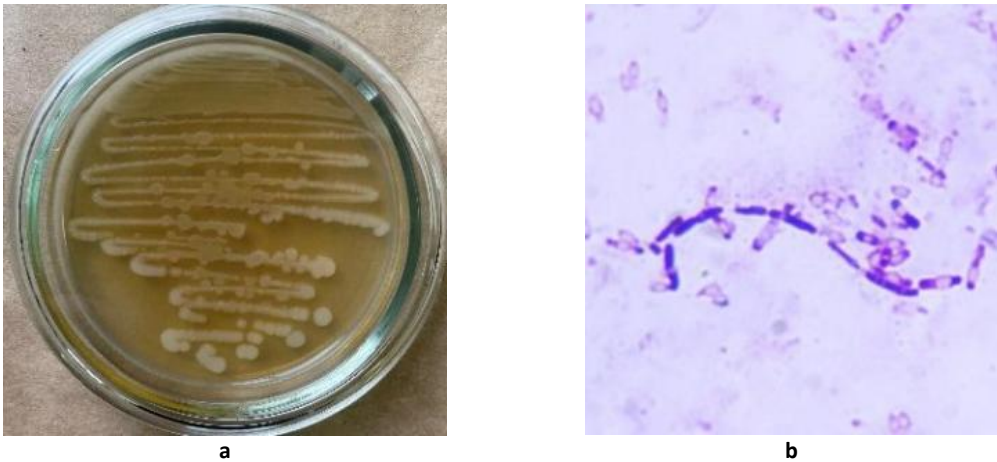


Рисунок 10. Изолят ИБ25. а – Колонии на ГРМ; b – Микроструктуры
Figure 10. Isolate IB25. a – Colonies on GRM; b – Microstructures

По культурально-морфологическому описанию выделенных культур и на основе анализа литературных данных, можно предположить, что изоляты выделенных бактерий относятся к представителям родов *Bacillus* и *Pseudomonas*.

Анализ нуклеотидной последовательности позволил уточнить родовую и установить видовую принадлежность каждого образца. Поиск последовательностей и определение их идентификации осуществляли с использованием стандартных параметров в базе данных GenBank NCBI (табл. 1).

После определения видовой принадлежности штаммы бактерий *Bacillus idriensis*, *Bacillus cereus*, *Brucella intermedia* были утилизированы. По литературным данным, они характеризуются как опасные для человека и теплокровных животных [26]. Штаммы *Pseudomonas silesiensis* ИБ16; *Bacillus thuringiensis* ИБ17; *Pseudomonas silesiensis* ИБ18; *Bacillus mycoides* ИБ19; *Lysinibacillus fusiformis* ИБ22; *Bacillus thuringiensis* ИБ23; *Pseudomonas silesiensis* ИБ24 были отобраны для дальнейшего эксперимента по определению их нематичесидной активности.

Таблица 1. Результаты анализа нуклеотидной последовательности исследуемых изолятов
Table 1. Results of analysis of the nucleotide sequence of the studied isolates

Номер изолята Isolate number	Последовательность нуклеотидов Nucleotide sequence	Видовая принадлежность Species affiliation
ИБ16 IB16	GTTTTCTGGGATTAGCTCCCCTCGCGGCTTGGCACCTCTGTACCGACATTGT AGCTAGTGTGTAGCCAGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCC ACCTTCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTCCTTAGAGTGCCACCAATTACGTGC TGGTAACTAAGGACAAGGGTTGCGCTCGTTACGGGACTTAACCAACATCTC ACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCAATGTTCCCGAAGG CACCAATCCATCTCTGGAAGTTCATTGGATGTCAAGGCCTGGTAAGGTTCTT CGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTC ATTCAATTGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTAAGGCTCCCAAGGCGGTCAACTTAATGC GTTAGCTGCGCCACTAAGAGCTCAAGGCTCCCAAGGCTAGTTGACATCGTTT ACGGCGTGGACTACAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCAAGGCTTTCGCAC CTCAGTGTCAATCAGTCCAGGTGGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCTA TATCTACGCA	<i>Pseudomonas silesiensis</i> 99,33 %

ИБ17 IB17	GCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGT TTGTACCCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCACTTAATGATGGCACTAAGATC AAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGA CGACAACCATGCACCACTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCT AGGGTTTTAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAAT TAAACCAACATGCTCCACCGCTTGTCGGGGCCCCGTCATTCCTTTGAGTTTCA GCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACT AAAGGGCGGAAACCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTACGGCGTGGACTAC CAGGGTATCT	<i>Bacillus thuringiensis</i> 100,00 %
ИБ18 IB18	AGATTAGCTCACCTCGCGGTTTGCCACCCTCTGTACCGACCATTTAGCTAG TGTGTAGCCAGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCC TCCGGTTTGTCACCGGCAGTCTCCTTAGAGTGCCACCATACGTGCTGGTAA CTAAGGACAAGGGTTGTAGCTCGTTACGGGACTTAACCAACATCTCACGACA CGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACTGTGTAGAGTTCCCGAAGGCACCAA TCCATCTCTGGAAGTTCTGTGCATGTCAAGGCCTGGTAAGGTTCTTCGCGTT GCTTCGAATTAACCAACATGCTCCACCGCTTGTCGGGGCCCCGTCATTCATT TGAGTTTTAACCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGTCAACTTAATGCGTTAGC TGCGCCACTAAAA	<i>Pseudomonas silesiensis</i> 98,63 %
ИБ19 IB19	GGTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTC ACCGGCAGTCTCTAAGAGTGCCCACTTAATGATGGGAAAAAAGCAAGG GGTGTGCTGGCTGTGCGAGTTTTACCAAACTCTCTGACACGAGCTGAGGAC ACCCCTGCACCCCTGTGTCTGCTCCCCAAAGCACCATTATCTATAGTT GTAGAGGATGTCACGACCTGGGAGGTTCTTCGCGCGGCTTCGAATTAAGAAA TGCTTACCCGCGTGC	<i>Bacillus mycoides</i> 84,47 %
ИБ20 IB20	GAGAATGTTTTCTATGGGATTGGCTAAACCTCGCGGTGTCGCCGCTGTTTGT CCCCCATTTAGCATAGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTG ACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCA ACTGAATGCTGGCACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACC CAACATCTCACGACAGAGCTGACGACAACCATGCACCACTGTCACTTTGTC CCCCGAAGGGGAACCTTCTATCTCTAGAAGTGCGCAAGGATGTCAAGACCTG GTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCAACATGCTCCACCGCTTGTCG GGCCCCGTCATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGG AGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAAGGGCGGAAACCTCTAACACTTA GCACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCCC CAGCTTTTCGCGCTCAGCG	<i>Bacillus idriensis</i> 98,00 %
ИБ21 IB21	GCGGTGTTGCCGCTTTTGTTCGCCATTGTAGCTAGTGTGTAGCCAGGTCA TAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCGG CAGTCACCTTAGAGTGCCCACTTAATGATGGCACTAAGATCAAGGGTTGC GCTCGTTGCGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCAT GCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTTAGGGTTTTCA GAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACT GCTCCACCGCTTGTCGGGGCCCCGTCATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGG CCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAAGGGCG GAAACCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTAT CTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTTCGCGCTCAGTGTACAGACCAGA AAGTCGCTTCGCCACTGGTGTCTCCATATCTACGCATTTACCGCTACA CATGGAATTCACCTTCTCTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTTCCAATGACCCT	<i>Bacillus cereus</i> 99,06 %
ИБ22 IB22	CTCGCGAGTTGTCAACCGTTGTATCGTCATTGAGGCTAGTGTGTAGCCAGG TCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCGG GCACCCTAAGTGCCCACTAAATGATGGCACTAAGATCAAGGGTTGCGCTC CTTGCGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACACCCCTCCCC CACCTGTACCGTTGCCCGGAAGGGGAACTATCTCTACAGTGGTCAACG GGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACTGC TCCACCGCTTGTCGGGGCCCCGTCATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCG TACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAA ACCACCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTA ATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTTCGCGCTCAGTGTACAGACCAGATAG TCGCTTCGCGCACTGGTGTCTCTCAAGTCTACGCATTTACCGCTACACTT GGAATTCACCTATCTCTCTGCACTC	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> 96,93 %
ИБ23 IB23	GTGTCTCCCTATTGTATCGGCCATTGTAGCTAGCGTGAAGCCCAAGACATAA GGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGAGTTGACCCCGGCAC GCCCTGAGTCCCCACCACTACGTGTGGCAACATGGAACGAGGGTTGCCCTC GTTGCGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACACCCCTGCAC CACCTGTGAACGAGCCCCGAAGGGGAGAACTCCATCTCTGAAGCGGTCTGGCA CATGTCAAGCCTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCGCATGCT	<i>Glutamicibacter arilaitensis</i> 96,50 %

	CCGCCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTTGCGGCCG TACTCCCCGAGGCGGGGCACTTAATGCGTTAGCTACGGCGCGAAACGTGGA ATGTAAATAATACCTAGTGCCCAACGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATC TAATCCTGTTGCTCCCCATGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTAATGCCAGAGA CCTGCCTTCGCCATCGGTGTTCTCTGATATCTGCGCATTTACACGCTACAC CAGGAATCCAGTCTCCCCTACATCACTCTAGTCTGCCCGTACCCACCG	
ИБ24 IB24	CGGTTTGCCACCCTCTGTACCGACCATTGTAGCATAGTGTAGCCCAGGCC GTAAGGGCCATGATGACTTGACGTATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTCACCG GCAGTCTCCTTAGAGTGCCCAACATAACGTGCTGGTAAGGACAAGGGT TGCGCTCGTTACGGGACTTAACCAACATCTCACGACAGAGCTGACGACAGC CATGCAGCACCTGTGTAGAGTTCGGAAGGCACCAATCCATCTCTGGAAAGT TCTCTGCATGTCAAGGCCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCA CATGCTCCACCGCTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGC GGCCGTACTCCCCAGGCGGTCAACTTAATGCGTTAGCTGCGCCACTAAAATCT CAAGGATCCAACGGCTAGTTGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTA TCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTCAGTGTCAGTATCAGTCCAG GTGGTCGCCTTCGCCACTGGTGTCTTCTATATCTACGCATTTACCGCTAC ACA	<i>Pseudomonas silesiensis</i> 99,49 %
ИБ25 IB25	GAGATTAGCTCAACTCGCTGCTCGTCCCGCTGACTCCACCATTGTAGCA CTATGTGTAGCCCAGCCGTAAGGGCCATGAGGACTTGACGTATCCCCACCT TCCTCTCGGCTTATACCGGCAGTCCCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGC AACTAAGGGCGAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCAACATCTCACGA CACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCCGATCCAGCCGAAGTAA GGATAGTGTCTCCACTAACCGCGATCGGGATGTCAAGGGCTGGTAAGGTTCT GCGCGTTGCTTCGAATTAACCAATGTCTCCACCGCTGTGCGGGCCCCCGTC AATTCCTTTGAGTTTTAATCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAATGTTAATG CGTTAGCTGCGCCACCGAAGAGTAACTCCCCAACGGCTAACATTCATCGTTT ACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCAC CTCAGCGTCAGTAATGGTCCAGTGAGCCGCCTTCGCCACTGG	<i>Brucella intermedia</i> 98,95 %

Через 24 часа в ЧП с жидкими культурами микроорганизмов смертность личинок *Meloidogyne hapla* достигала от 45,5±1,2 % до 85,0±2,8 %. Штаммы бактерий *Lysinibacillus fusiformis* ИБ22 (3х10⁹ КОЕ/мл) показали меньшую смертность. Проведение однофакторного дисперсионного анализа позволило выявить статистически значимую разницу по их

нематичесидной активности. Между штаммами бактерий *Pseudomonas silesiensis* ИБ18; *Bacillus thuringiensis* ИБ23; *Pseudomonas silesiensis* ИБ24 значимых различий не выявлено, что указывает на их одинаковую эффективность против *M. hapla* в пределах погрешности. В контрольном варианте с обработкой водой, все личинки были живы (табл. 2).

Таблица 2. Влияние жидких культур бактерий на смертность галловых нематод (*M. hapla*) в лабораторных условиях через 24, 48, 72 часа после обработки и 24 часа после фильтрации, %
Table 2. Effect of liquid bacterial cultures on root-knot nematode mortality (*M. hapla*) in laboratory conditions in 24, 48, 72 hours after treatment and 24 hours after filtration, %

Штаммы Strains	Через 24 часа In 24 hours	Через 48 часов In 48 hours	Через 72 часа In 72 hours	Через 24 часа после фильтрации 24 hours after filtration
<i>Pseudomonas silesiensis</i> ИБ16 (2х10⁹ КОЕ/мл)				
<i>Pseudomonas silesiensis</i> IB16 (2х10 ⁹ CFU/ml)	47,1±0,6	51,1±0,6	60,4±1,5	62,2±1,0
<i>Bacillus thuringiensis</i> ИБ17 (4х10⁵ КОЕ/мл)				
<i>Bacillus thuringiensis</i> IB17 (4х10 ⁵ CFU/ml)	83,4±1,1	94,0±2,3	98,9±1,1	92,2±1,0
<i>Pseudomonas silesiensis</i> ИБ18 (2х10⁹ КОЕ/мл)				
<i>Pseudomonas silesiensis</i> IB18 (2х10 ⁹ CFU/ml)	81,8±2,0	91,6±1,5	97,0±1,1	93,9±1,0
<i>Bacillus mycoides</i> ИБ19 (3х10⁸ КОЕ/мл)				
<i>Bacillus mycoides</i> IB19 (3х10 ⁸ CFU/ml)	85,0±1,7	98,9±0,6	100,0±0,1	97,2±1,0
<i>Lysinibacillus fusiformis</i> ИБ22 (3х10⁹ КОЕ/мл)				
<i>Lysinibacillus fusiformis</i> IB22 (3х10 ⁹ CFU/ml)	45,5±1,0	48,9±0,2	57,1±0,7	57,2±0,7

<i>Bacillus thuringiensis</i> ИБ23 (3x10 ⁸ КОЕ/мл)	82,4±1,4	92,9±1,4	97,3±0,9	94,4±0,6
<i>Bacillus thuringiensis</i> ИБ23 (3x10 ⁸ CFU/ml)				
<i>Pseudomonas silesiensis</i> ИБ24 (2x10 ⁹ КОЕ/мл)	81,9±0,5	91,8±0,8	97,3±1,4	95,0±1,0
<i>Pseudomonas silesiensis</i> ИБ24 (2x10 ⁹ CFU/ml)				
Контроль (стерильная вода) Control (sterile water)	0,0±0,0	1,5±0,1	2,4±0,1	5,0±0,2
НСП₀₅ LSD ₀₅	1,28	1,22	1,04	0,88

С течением времени, через 48 часов и 72 часа наблюдалась похожая тенденция. Через 72 часа штаммы бактерий *Bacillus mycoides* ИБ19, *Pseudomonas silesiensis* ИБ24, *Bacillus thuringiensis* ИБ23, *Pseudomonas silesiensis* ИБ18 и *Bacillus thuringiensis* ИБ17 показали наибольшую нематотическую активность, где смертность личинок нематод была более 92,2 %. Штамма *Pseudomonas silesiensis* ИБ18; *Bacillus thuringiensis* ИБ23; *Pseudomonas silesiensis* ИБ24 не показали статистически значимой разницы эффективности, из чего можно сделать заключение, что их эффективность была на одном уровне.

Для исключения нематостатического эффекта или обездвиживания нематод по истечению 96 часов с начала закладки опыта проведена их фильтрация. Установлено, что смертность личинок с наивысшими показателями получена в тех же вариантах, что и в конце опыта без фильтрации. По показателю НСП₀₅ штаммы *Pseudomonas silesiensis* ИБ18; *Bacillus thuringiensis* ИБ23; *Pseudomonas silesiensis* ИБ24 показали одинаковую смертность личинок *M. hapla*. Во всех вариантах опыта был отмечен незначительный нематостатический эффект, что не повлияло на итоговую нематотическую активность штаммов. В контроле с применением стерильной воды, более 95,0 % личинок оставались подвижными и живыми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате работы были получены изоляты бактерий из ризосферы растений томата, поражённых северной галловой нематодой *Meloidogyne hapla*. Проведено культурально-морфологическое описание и анализ нуклеотидной последовательности их ДНК. Получены данные о высокой нематотической активности в отношении северной галловой нематоды *M. hapla* жидких культур штаммов бактерий *Bacillus thuringiensis* ИБ17 (титр 1x10⁵, КОЕ/мл), *Pseudomonas silesiensis* ИБ18 (титр 1x10⁶, КОЕ/мл), *Bacillus mycoides* ИБ19 (титр 1x10⁸, КОЕ/мл), *Glutamicibacter arilaitensis* ИБ23 (титр 1x10⁶, КОЕ/мл), *Pseudomonas silesiensis* ИБ24 (титр 1x10⁷, КОЕ/мл). Данные штаммы могут быть в дальнейшем использованы для создания бионематотиков.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/118.

ACKNOWLEDGMENT

The research has been carried out with the financial support of the Kuban Science Foundation in the framework of the scientific project Num. MFI-20.1/118.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- van den Hoogen J. et al. A global database of soil nematode abundance and functional group composition // Scientific data. 2020. V. 7. N 1. P. 103–105.
- Nekoval S.N., Churikova A.K., Chernyakov M.N., Pridannikov M.V. Primary Screening of Microorganisms against *Meloidogyne hapla* (Chitwood, 1949) under the Conditions of Laboratory and Vegetative Tests on Tomato // Plants. 2023. V. 12. N 18. P. 3323. <https://doi.org/10.3390/plants12183323>
- Корчагин В.Н. Атлас болезней и вредителей плодовых, ягодных, овощных культур и винограда. Справочник. Москва: Агропромиздат, Природа, 1989. 333 с.
- Казаченко И.П., Волкова Т.В., Мухина Т.И., Иванов И.Н. Корневые галловые нематоды рода *Meloidogyne* на Дальнем Востоке России // Российский паразитологический журнал. 2012. N 2. С. 1–116.
- Некваль С.Н., Черняков М.Н., Чурикова А.К. Нематотические грибы и их механизм действия в отношении галловых нематод (*Meloidogyne* spp.) (обзор) // Достижения науки и техники АПК. 2023. Т. 37. N 5. С. 10–20. https://doi.org/10.53859/02352451_2023_37_5_10
- Зиновьева С.В., Чижов В.Н. Фитопаразитические нематоды России. Москва: КМК, 2012. 385 с.
- Осташева Н.А. Галловая нематода (*Meloidogyne hapla* Chitwood) – опасный паразит лекарственных, плодовых и субтропических культур на Черноморском побережье России и меры борьбы с ней // Субтропическое и декоративное садоводство. 2011. N 44. С. 236–240.
- Gao H. et al. *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematocidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine // Scientific reports. 2016. V. 6. N 1. P. 1–11.
- Чурикова А.К., Некваль С.Н., Биологические агенты и их метаболиты в борьбе с *Meloidogyne* spp. при выращивании овощных культур (обзор) // Юг России: экология, развитие. 2022. Т. 17, N 3. С. 175–186. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-3-175-186>
- Poveda J., Baptista P. Filamentous fungi as biocontrol agents in olive (*Olea europaea* L.) diseases: Mycorrhizal and endophytic fungi // Crop Protection. 2021. V. 146. Article ID: 105672.
- Poveda J., Abril-Urias P., Escobar C. Biological control of plant-parasitic nematodes by filamentous fungi inducers of resistance: Trichoderma, mycorrhizal and endophytic fungi // Frontiers in Microbiology. 2020. V. 11. Article ID: 530260.
- Gu Y.Q., Mo M.H., Zhou J.P., Zou C.S., Zhang K.Q. Evaluation and identification of potential organic nematocidal volatiles from soil bacteria // Soil Biology and Biochemistry. 2007. V. 39. N 10. P. 2567–2575.

13. Diypoglu A., Oner M., Meng M. Application potential of bacterial volatile organic compounds in the control of root-knot nematodes // *Molecules*. 2022. V. 27. N 14. P. 4355.
14. Evidente A. Microbial and plant derived low risk pesticides having nematocidal activity // *Toxins*. 2022. V. 14. N 12. P. 849.
15. Abebew D., Sayedain F.S., Bode E., Bode H.B. Uncovering nematocidal natural products from *Xenorhabdus* bacteria // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2022. V. 70. N 2. P. 498–506.
16. Abdel Rasoul M.A., El-Habashy D.E. Nematicidal activity of some nanoemulsions of monoterpenes on tomato root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica*) // *Journal of Plant Protection and Pathology*. 2021. V. 12. N 9. P. 655–661.
17. Mhatre P.H., Thorat Y.E., Manimaran B., Divya K.L., Bairwa A., Chavan S.N., Karthik C. Nematicidal Activity of Secondary Metabolites from Soil Microbes // *Sustainable Management of Nematodes in Agriculture*, Vol. 2: Role of Microbes-Assisted Strategies. 2024. P. 297–324.
18. Rao M.S., Umamaheswari R., Priti K., Rajinikanth R., Grace G.N., Kamalnath M., Vidyashree M. Role of biopesticides in the management of nematodes and associated diseases in horticultural crops // *Plant, soil and microbes*. Springer, Cham. 2016. P. 117–148.
19. Хомяк А.И., Асатурова А.М., Сидоров Н.М., Дубяга В.М. Биологический контроль фитопаразитических нематод на основе микроорганизмов (обзор) // *Таврический вестник аграрной науки*. 2021. N 3. С. 191–219. <https://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-3-27-191-219>
20. Gamalero E., Glick B.R. The use of plant growth-promoting bacteria to prevent nematode damage to plants // *Biology*. 2020. V. 9. N 11. P. 381. <https://doi.org/10.3390/biology9110381>
21. Hussain T., Haris M., Shakeel A., Ahmad G., Ahmad Khan A., Khan M.A. Bio-nematicidal activities by culture filtrate of *Bacillus subtilis* HussainT-AMU: New promising biosurfactant bioagent for the management of Root Gallings caused by *Meloidogyne incognita* // *Vegetos*. 2020. V. 33. N 2. P. 229–238.
22. Безлер Н.В., Хуссейн А.С., Петюренко М.Ю. ПЦР идентификация и генетическое разнообразие *Pseudomonas fluorescens* выделенных из агроценоза сахарной свёклы (*Beta vulgaris* L.) // *Вестник ВГУ*. 2016. N 1. С. 43–49.
23. Тюкавкина С.Ю., Сылка О.И., Харсеева Г.Г., Лабушкина А.В. Систематика и морфология микроорганизмов. Методы изучения морфологии бактерий. Ростов-на-Дону: Ростовский государственный медицинский университет, 2016. 66 с.
24. Конрат А.Н., Лычагина С.В., Шестернов А.А. Методические указания «Методология по скринингу in vitro штаммов, изолятов бактерий, обладающих паразитарными и нематодными свойствами» // *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями*. 2021. N 22. С. 575–590.
25. Ayala-Doñas A., Cara-García, M.D. Talavera-Rubia M., Verdejo-Lucas S. Management of soil-borne fungi and root-knot nematodes in cucurbits through breeding for resistance and grafting // *Agronomy*. 2020. V. 10. N 11. P. 1641.
26. Ko K.S., Oh W.S., Lee M.Y., Lee J.H., Lee H., Peck K.R., Song J.H. *Bacillus infantis* sp. nov. and *Bacillus idriensis* sp. nov., isolated from a patient with neonatal sepsis // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2006. V. 56. N 11. P. 2541–2544.

REFERENCES

1. van den Hoogen J. et al. A global database of soil nematode abundance and functional group composition. Scientific data. 2020, vol. 7, no. 1, pp. 103–105.
2. Nekoval S. N., Churikova A. K., Chernyakovich M. N., Pridannikov M. V. Primary Screening of Microorganisms against *Meloidogyne* hapla (Chitwood, 1949) under the Conditions of Laboratory and Vegetative Tests on Tomato. *Plants*, 2023, vol. 12, no. 18, p. 3323. <https://doi.org/10.3390/plants12183323>
3. Korchagin V.N. *Atlas boleznei i vreditelei plodovykh, yagodnykh, ovoshchnykh kul'tur i vinograda* [Atlas of diseases and pests of fruit, berry, vegetable crops and grapes. Directory]. Moscow, Agropromizdat, Priroda Publ., 1989, 333 p. (In Russian)
4. Kazachenko I.P., Volkova T.V., Mukhina T.I., Ivanov I.N. Root-knot nematodes of the genus *Meloidogyne* in the Russian Far East. *Rossiiskii parazitologicheskii zhurnal* [Russian Journal of Parasitology]. 2012, no. 2, pp. 1–116. (In Russian)
5. Nekoval' S.N., Chernyakovich M.N., Churikova A.K. Nematicidal fungi and their mechanism of action against root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) (review). *Dostizheniya nauki i tekhniki APK* [Achievements of science and technology of the agro-industrial complex]. 2023, vol. 37, no. 5, pp. 10–20. (In Russian) https://doi.org/10.53859/02352451_2023_37_5_10
6. Zinov'eva S.V., Chizhov V.N. *Fitoparaziticheskie nematody Rossii Monografiya* [Phytoparasitic nematodes of Russia Monograph]. Moscow, KMK Publ., 2012, 385 p. (In Russian)
7. Ostasheva N.A. Root-knot nematode (*Meloidogyne hapla* Chitwood) is a dangerous parasite of medicinal, fruit and subtropical crops on the Black Sea coast of Russia and measures to combat it. *Subtropicheskoe i dekorativnoe sadovodstvo* [Subtropical and ornamental gardening]. 2011, no. 44, pp. 236–240. (In Russian)
8. Gao H. et al. *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematocidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine. *Scientific reports*. 2016, vol. 6, no. 1, pp. 1–11.
9. Churikova A.K., Nekoval S.N. Biological agents and their metabolites to control *Meloidogyne* spp. when growing vegetables (review). *South of Russia: ecology, development*, 2022, vol. 17, no. 3, pp. 175–186. (In Russian) <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2022-3-175-186>
10. Poveda J., Baptista P. Filamentous fungi as biocontrol agents in olive (*Olea europaea* L.) diseases: Mycorrhizal and endophytic fungi. *Crop Protection*. 2021, vol. 146, p. 105672.
11. Poveda J., Abril-Urias P., Escobar C. Biological control of plant-parasitic nematodes by filamentous fungi inducers of resistance: Trichoderma, mycorrhizal and endophytic fungi. *Frontiers in Microbiology*. 2020, vol. 11, p. 530260.
12. Gu Y.Q., Mo M.H., Zhou J.P., Zou C.S., Zhang K.Q. Evaluation and identification of potential organic nematocidal volatiles from soil bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*. 2007, vol. 39, no. 10, pp. 2567–2575.
13. Diypoglu A., Oner M., Meng M. Application potential of bacterial volatile organic compounds in the control of root-knot nematodes. *Molecules*. 2022, vol. 27, no. 14, p. 4355.

14. Evidente A. Microbial and plant derived low risk pesticides having nematocidal activity. *Toxins*. 2022, vol. 14, no. 12. p. 849.
15. Abebew D., Sayedain F.S., Bode E., Bode H.B. Uncovering nematocidal natural products from *Xenorhabdus* bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2022, vol. 70, no. 2. pp. 498–506.
16. Abdel Rasoul M.A., El-Habashy D.E. Nematicidal activity of some nanoemulsions of monoterpenes on tomato root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica*). *Journal of Plant Protection and Pathology*. 2021, vol. 12, no. 9, pp. 655–661.
17. Mhatre P.H., Thorat Y.E., Manimaran B., Divya K.L., Bairwa A., Chavan S.N., Karthik C. Nematicidal Activity of Secondary Metabolites from Soil Microbes. *Sustainable Management of Nematodes in Agriculture, Vol. 2: Role of Microbes-Assisted Strategies*. 2024, pp. 297–324.
18. Rao M.S., Umamaheswari R., Priti K., Rajinikanth R., Grace G.N., Kamalnath M., Vidyashree M. Role of biopesticides in the management of nematodes and associated diseases in horticultural crops. *Plant, soil and microbes*. Springer, Cham. 2016, pp.117–148.
19. Khomyak A.I., Asaturova A.M., Sidorov N.M., Dubyaga V.M. Microorganism-based biological control of plant-parasitic nematodes (review). *Tauride Bulletin of Agrarian Science*, 2021, no. 3, pp. 191–219. (In Russian) <https://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-3-27-191-219>
20. Gamalero E., Glick B.R. The use of plant growth-promoting bacteria to prevent nematode damage to plants. *Biology*, 2020, vol. 9, no. 11, p. 381. <https://doi.org/10.3390/biology9110381>
21. Hussain T., Haris M., Shakeel A., Ahmad G., Ahmad Khan A., Khan M.A. Bio-nematicidal activities by culture filtrate of *Bacillus subtilis* HussainT-AMU: New promising biosurfactant bioagent for the management of Root Galling caused by *Meloidogyne incognita*. *Vegetos*. 2020, vol. 33, no. 2, pp. 229–238.
22. Bezler N.V., Khussein A.S., Petyurenko M.Yu. PCR identification and genetic diversity of *Pseudomonas fluorescens* isolated from sugar beet (*Beta vulgaris* L.) agroecosystem. *Vestnik VGU [VSU Bulletin]*. 2016, no. 1, pp. 43–49.
23. Tyukavkina S.Yu., Sylka O.I., Kharseeva G.G., Labushkina A.V. *Sistematika i morfologiya mikroorganizmov. Metody izucheniya morfologii bakterii* [Systematics and morphology of microorganisms. Methods for studying the morphology of bacteria]. Rostov-na-Donu, Rostov State Medical University Publ., 2016, 66 p. (In Russian)
24. Konrat A.N., Lychagina S.V., Shesteporov A.A. Guidelines "Methodology for in vitro screening of strains, isolates of bacteria with parasitic and nematicidal properties". *Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami* [Theory and practice of combating parasitic diseases]. 2021, no. 22, pp. 575–590. (In Russian)
25. Ayala-Doñas A., Cara-García, M.D. Talavera-Rubia M., Verdejo-Lucas S. Management of soil-borne fungi and root-knot nematodes in cucurbits through breeding for resistance and grafting. *Agronomy*. 2020, vol. 10, no. 11, p. 1641.
26. Ko K.S., Oh W.S., Lee M.Y., Lee J.H., Lee H., Peck K.R., Song J.H. *Bacillus infantis* sp. nov. and *Bacillus idriensis* sp. nov., isolated from a patient with neonatal sepsis. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2006, vol. 56, no. 11, pp. 2541–2544.

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Максим Н. Чернякович, Арина К. Чурикова и Светлана Н. Нековаль проводили исследования, собрали экспериментальные данные. Вячеслав С. Муравьев, Светлана Н. Нековаль и Максим Н. Чернякович проанализировали данные, написали рукопись. Все авторы в равной степени несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Maxim N. Chernyakovich, Arina K. Churikova and Svetlana N. Nekoval conducted research and collected experimental data. Vyacheslav S. Muraviev, Svetlana N. Nekoval and Maxim N. Chernyakovich analyzed the data and wrote the manuscript. All authors are equally responsible for detecting plagiarism, self-plagiarism or other genetic problems.

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Светлана Н. Нековаль / Svetlana N. Nekoval <https://orcid.org/0000-0003-4217-3156>

Максим Н. Чернякович / Maxim N. Chernyakovich <https://orcid.org/0000-0002-7158-8396>

Вячеслав С. Муравьев / Vyacheslav S. Muraviev <https://orcid.org/0000-0003-1626-1603>

Арина К. Чурикова / Arina K. Churikova <https://orcid.org/0000-0003-1429-4153>