

УДК 595.132:615.284

**ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИНТАКТНЫХ БАКТЕРИЙ
И ИХ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ
НА РАЗНЫЕ СТАДИИ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА
ПОЧВЕННОЙ НЕМАТОДЫ *CAENORHABDITIS ELEGANS***

¹Калинникова Т.Б., ¹Егорова А.В., ¹Гатиятуллина А.Ф., ²Фролов М.Д., ²Валидов Ш.З.

¹Институт проблем экологии и недропользования государственного бюджетного научного учреждения «Академия наук Республики Татарстан», Казань, Российская Федерация, e-mail: tbkalinnikova@gmail.com;

²Лаборатория молекулярно-генетических и микробиологических методов Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр» Российской академии наук, Казань, Российской Федерации

Фитопатогенные нематоды существенно снижают продуктивность растениеводства. Актуальной задачей является разработка методов контроля численности нематод без использования опасных для человека пестицидов. Целью настоящей работы стало изучение действия бактериальных культур и их супернатантов на разные стадии жизненного цикла почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*. Бактериальные изолятами были выделены из ризосферы озимой пшеницы. Для идентификации образцов использовался метод молекулярно-генетического анализа по последовательности гена 16S rPHK. Авторами исследовано действие супернатантов и интактных бактерий *Bacillus velezensis* MGMM30, *Bacillus subtilis* MGMM36, *Streptomyces* sp. MGMM37 и *Bacillus thuringiensis* MGMM57 на развитие и выживаемость нематод. Эксперименты проводили с двумя линиями *C. elegans*: линией дикого типа N2 и мутантной линией DA1316, устойчивой к ивермектину. Токсичность супернатантов оценивали в экспериментах с молодыми половозрелыми нематодами, синхронизированными по возрасту. Влияние бактерий на разные жизненные стадии нематод изучали в экспериментах по культивированию стерильных яиц *C. elegans* в чашках Петри, засеянных исследуемыми бактериями. Выявлена высокая нематоцидная активность супернатантов бактерий *Bacillus velezensis* MGMM30 и *Bacillus subtilis* MGMM36 не только в отношении линии *C. elegans* дикого типа N2, но и в отношении мутантной линии DA1316, устойчивой к ивермектину. Бактерии *Bacillus velezensis* MGMM30 и *Bacillus subtilis* MGMM36 не оказывали негативного влияния на развитие и рост нематод. Штамм *Streptomyces* sp. MGMM37 вызывал гибель *C. elegans* на стадии личинок. Штамм *Bacillus thuringiensis* MGMM57 замедлял развитие нематод. Результаты работы показывают возможность использования лабораторной культуры *C. elegans* для скрининга бактерий на нематоцидную и нематостатическую активность. Химический анализ супернатантов и вторичных метаболитов бактерий, подавляющих развитие нематод, может стать основой для разработки средств борьбы с фитопатогенными нематодами.

Ключевые слова: *Caenorhabditis elegans*, фитопаразитические нематоды, нематоциды, микроорганизмы, *Bacillus*, *Streptomyces*

**THE INVESTIGATION OF INTACT BACTERIA AND THEIR
METABOLITES ACTION ON DIFFERENT STAGES OF THE LIFE
CYCLE OF SOIL NEMATODE *CAENORHABDITIS ELEGANS***

¹Kalinnikova T.B., ¹Egorova A.V., ¹Gatiyatullina A.F., ²Frolov M.D., ²Validov Sh.Z.

¹Research Institute for Problems of Ecology and Mineral Wealth Use of the State Institution Tatarstan Academy of Sciences, Kazan, Russian Federation, e-mail: tbkalinnikova@gmail.com;

²Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, Kazan, Russian Federation

Phytopathogenic nematodes significantly reduce crop productivity. The looking for methods to control nematodes abundance without use of pesticides hazardous for humans is the urgent task. The aim of this work was to study intact bacteria and their supernatants effects on the different life cycle stages and survivability of soil nematode *Caenorhabditis elegans*. Bacterial isolates were obtained from winter wheat rhizosphere. The molecular genetic analysis of 16S rRNA gene sequence was used to identify bacterial specimens. The supernatants and intact bacteria *Bacillus velezensis* MGMM30, *Bacillus subtilis* MGMM36, *Streptomyces* sp. MGMM37, and *Bacillus thuringiensis* MGMM57 effects on the nematodes life cycle and survivability was studied. Two *C. elegans* strains were used in experiments: wild-type N2 strain and DA1316 strain resistant to ivermectin. Supernatants toxicity was estimated in experiments with young adult age-synchronized nematodes. The effects of bacteria on different life cycle stages of nematodes were studied in experiments with *C. elegans* sterile eggs grown in Petri dishes seeded with bacteria being studied. High nematicidal activity of *Bacillus velezensis* MGMM30 and *Bacillus subtilis* MGMM36 supernatants was revealed not only for *C. elegans* wild-type N2 strain, but also for mutant strain DA1316 resistant to ivermectin. Bacteria *Bacillus velezensis* MGMM30 and *Bacillus subtilis* MGMM36 did not have any negative impact on nematodes growth and development. Bacteria *Streptomyces* sp. MGMM37 caused *C. elegans* death on larva stage. Bacteria *Bacillus thuringiensis* MGMM57 slowed down nematodes development. Results of this work show the possibility to use laboratory *C. elegans* strain for screening bacteria for nematicidal and nematostatic activities. Chemical analysis of supernatants and secondary metabolites of bacteria suppressed the nematodes development may serve the basis to search substances for phytoneurotides control.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*, фитопаразитические нематоды, нематоциды, микроорганизмы, *Bacillus*, *Streptomyces*

Введение

Паразитирующие на растениях нематоды могут поражать как подземные (корни и корневища), так и надземные (листья, стебли, плоды) части растений. Следствием широкого распространения фитопатогенных нематод является снижение продуктивности растениеводства. Общие потери урожайности возделываемых культур при этом составляют 12–25 % [1]. Наибольший ущерб растениеводству наносят галловые нематоды, обитающие в почве и поражающие корни растений. Это прежде всего нематоды рода *Meloidogyne* (*M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* и др.), злаковые цистообразующие нематоды *Heterodera avenae* и *H. filipjevi*, картофельные нематоды *Globodera rostochiensis* и *G. pallida* и свекловичная нематода *Heterodera schachtii* [2].

Для контроля численности фитопаразитических нематод в настоящее время применяют профилактические меры (проведение карантинных мероприятий, использование устойчивых сортов, научно обоснованные схемы севооборота) [3] и химические средства борьбы [4]. Пестициды, применяемые для борьбы с корневыми нематодами, эффективны и удобны в применении. При этом не следует забывать об опасности пестицидов как для сельхозпроизводителей, так и для конечных потребителей продукции растениеводства. Применение пестицидов наносит ущерб окружающей среде, поскольку они уничтожают не только вредителей растений, но и других беспозвоночных.

Дозы пестицидов, применяемые для борьбы с корневыми нематодами, много-кратно превышают дозы, применяемые для борьбы с другими беспозвоночными вредителями, поскольку очаги паразитирования удалены от поверхности почвы, куда вносятся пестициды [5]. Долгое время основным средством контроля численности корневых нематод являлся препарат ТЕМІК® на основе карbamатного ингибитора ацетилхолинэстеразы алдикарба. Из-за высокой токсичности алдикарба для человека Всемирная организация здравоохранения запретила использование ТЕМІК® более чем в ста странах [6]. В настоящее время для борьбы с корневыми нематодами используют фосфорогорганический ингибитор ацетилхолинэстеразы фостиазат [7], карbamатный ингибитор ацетилхолинэстеразы оксамил и аверсектин, представляющий собой смесь четырех веществ, выделенных из *Streptomyces averitilis* [8]. К сожалению, высокая токсичность оксамила и фостиазата не только для беспозвоночных, но и для позвоночных животных ограничивает их применение.

Одним из безопасных для человека и окружающей среды методов контроля численности вредителей растений может быть использование микроорганизмов и/или их метаболитов [9, 10].

В лаборатории молекулярно-генетических и микробиологических методов КазНЦ РАН разработаны методы отбора микроорганизмов для биологической защиты растений и принципы формирования консорциума микроорганизмов для оптимизации состояния ризосферы [11]. В этот консорциум входят микроорганизмы, обладающие широким спектром ферментативной активности, способные колонизировать корневую систему и подавлять рост фитопатогенных грибов [12, 13]. Предполагается, что формирование такого консорциума повысит плодородие почвы, урожайность, устойчивость растений к стрессорам и в конечном счете приведет к повышению качества продукции растениеводства. Включение в этот консорциум также и микроорганизмов с нематоцидной или нематостатической активностью позволит снизить негативное влияние галловых нематод на развитие растений и их продуктивность [14].

Удобным модельным организмом для отбора штаммов микроорганизмов, обладающих нематоцидной активностью, является свободноживущая почвенная нематода *Caenorhabditis elegans* [15]. Эту нематоду удобно выращивать в лаборатории в чашках Петри благодаря маленьким размерам тела (размер взрослой особи всего 1 мм), высокой плодовитости и скорости развития. Проведение экспериментов с *C. elegans* не требует специальных средств защиты для исследователя, поскольку эта нематода неспособна размножаться при температуре тела человека [16]. *C. elegans* успешно используется для изучения действия интактных микроорганизмов и супернатантов бактерий на организмы нематод [17].

Целью настоящей работы стало изучение действия бактериальных культур и их супернатантов, содержащих вторичные метаболиты, на разные стадии жизненного цикла почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*.

Материалы и методы исследования

Выделение и идентификация микроорганизмов

Бактериальные изоляты выделены из ризосферы озимой пшеницы. Отбор образцов проводили на территории Республики Татарстан в окрестностях с. Большие Кабаны 55°62'13.62» с.ш. 49°32'68.39» в.д. на полевых площадях ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН в период с июня по сентябрь 2022 г.

Образцы почвы, корни и надземные части растений собирали в стерильные пробирки. В лаборатории с образцов делали смывы фосфатно-солевым буфером в соотношении 1:9. После перемешивания смывов в течение одной минуты их высевали на неселективную среду King B (10 г/л пептона, 10 г/л глицерина, 18 г/л микробиологического агара, 12/5 мМ сульфата магния, 8,6 мМ фосфата калия двузамещенного) с добавлением 32 мкг/мл нистатина и инкубировали в течение суток при температуре 30 °C.

Для идентификации образцов использовался метод молекулярно-генетического анализа по последовательности гена 16S рРНК. Геномная ДНК из каждого изолята была выделена с использованием метода фенол-хлороформной экстракции [18]. ПЦР-амплификацию проводили в соответствии с методикой [19]. Амплифицированный фрагмент очищали от 1,2% гель-агарозы с помощью набора Cleanup Mini (Evrogen, Москва, Россия). Полученный фрагмент ДНК отправляли в компанию Evrogen для секвенирования. Полученную хроматограмму последовательности 16S рРНК подвергали сравнительному анализу в сервисе NCBI Blast для идентификации.

Определение ферментативных активностей проводили в соответствии с методикой, описанной в работе [11].

Приготовление бактериальной суспензии и получение супернатантов

Для получения бактериальной суспензии единичную колонию изолята асептически переносили в стерильную питательную среду King B и культивировали на шейкер-инкубаторе при 30 °C и 180 грт в течение 14 ч. Измерение оптической плотности культур перед нанесением проводили на спектрофотометре Feyond-a400 (Allsheng, Китай) при длине волны $\lambda = 600$ нм. Для получения оптической плотности конечной культуры ($OP_{600} = 0,1$) суспензию клеток разводили стерильной питательной средой.

Супернатанты отделяли от основной массы бактерий центрифугированием бактериальной суспензии в течение 10 мин (4000 об/мин, 15 °C). Оставшиеся после центрифугирования клетки удаляли фильтрацией через нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм (Sartorius, Германия).

Линии C. elegans и их выращивание

Эксперименты проводили с двумя линиями *C. elegans* линией дикого типа N2 и мутантной линией DA1316 (*avr-14(ad1305) I; avr-15(vu227) glc-1(pk54) V*), устойчивой к ивермектину. Линии были получены из Caenorhabditis Genetics Center. Нематод

выращивали по методике, описанной в работе T. Belov et al. [20].

Оценка токсичности супернатантов бактерий

Токсичность супернатантов оценивали при 22 °C в М9 буфере [20] в экспериментах с молодыми половозрелыми нематодами, синхронизированными по возрасту [21]. Нематод, отмытых от среды выращивания, бактерий и экзометаболитов, помещали в стеклянные центрифужные пробирки объемом 10 мл (50 особей в одну пробирку), куда добавляли М9 буфер и супернатанты бактерий (конечный объем 1 мл). Негативным контролем служил М9 буфер, а позитивным – ивермектин, антигельминтный препарат. Критерием нематоцидной активности супернатантов служила гибель нематод после 24-часовой инкубации с супернатантами. Состояние нематод оценивали визуально, для наблюдения использовали стереоскопический микроскоп SMZ-05. Каждый вариант эксперимента выполняли в четырех повторностях.

Оценка влияния культур бактерий на развитие и рост C. elegans

Для оценки влияния микроорганизмов на рост и развитие *C. elegans* культуру бактерий высевали на чашки Петри со средой выращивания нематод и культивировали 24 ч при 30 °C. Стерильные яйца нематод линии дикого типа N2, полученные по методу [21], переносили в чашки Петри, засеянные исследуемыми бактериями, и культивировали при 22 °C. Состояние культур нематод оценивали ежедневно в течение 7 дней визуально с использованием микроскопа Olympus CX43 (Китай).

Результаты исследования и их обсуждение

Выделение и идентификация микроорганизмов

Для исследования были отобраны четыре штамма: MGMM30, MGMM37, MGMM57 и MGMM36. Морфология изолятов приведена на рис. 1.

Штамм MGMM30, согласно анализу гена 16S рРНК, принадлежит к виду *Bacillus velezensis* и имеет различные колонии, от круглых до неправильных, различной высоты, а также секreteирует ряд экзоферментов: целлюлазу, липазу, протеазу, амилазу.

Штамм MGMM37 охарактеризован как *Streptomyces* sp. и представляет собой жесткие, кожистые круглые пигментирующие колонии, а также выделяет липазу, протеазу и амилазу.

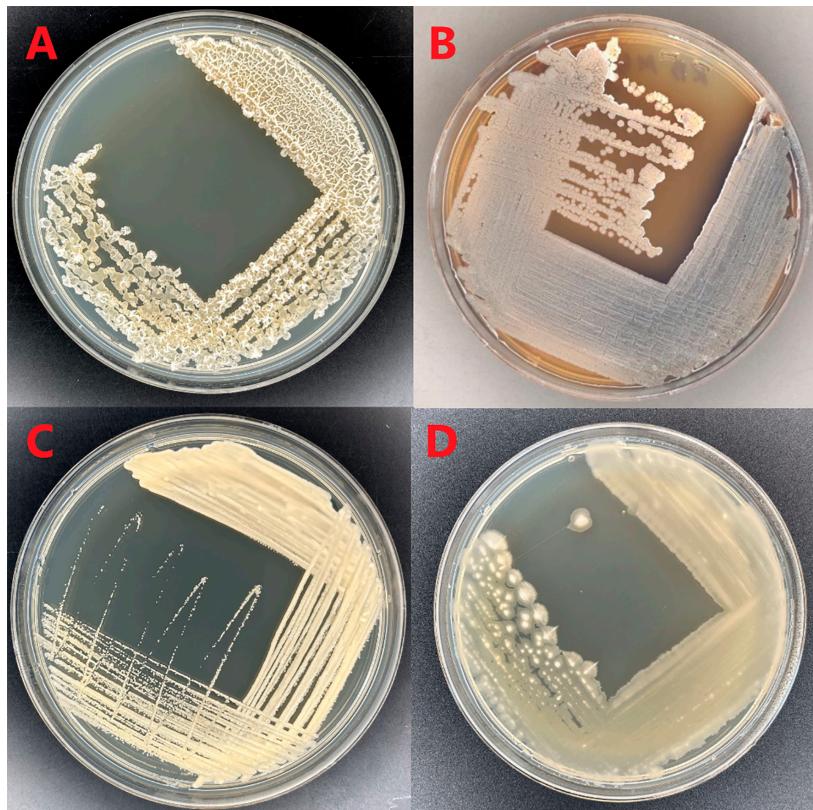


Рис. 1. Морфология микроорганизмов:
A – MGMM30, B – MGMM37, C – MGMM57, D – MGMM36
Примечание: на рисунке приведены оригинальные фотографии,
сделанные авторами в ходе исследования

Колонии штамма MGMM57 круглые, желтоватые, слизистой формы с гладкими краями. Штамм относится к виду *Bacillus thuringiensis*.

Штамм MGMM36 принадлежит к виду *Bacillus subtilis* и представляет собой желтоватые колонии с гладкой блестящей поверхностью. Анализ экзоферментов показал наличие целлюлаз, липаз, протеаз и амилаз.

Влияние супернатантов бактерий на выживаемость нематод

Результаты экспериментов по изучению токсического действия супернатантов бактерий на *C. elegans* показаны в таблице. Супернатанты бактерий *Bacillus velezensis* MGMM30 и *Bacillus subtilis* MGMM36 были токсичны для *C. elegans* линии дикого типа N2. Супернатант *Bacillus velezensis* MGMM30 в концентрации 1,25 и 2,5% вызывал гибель 85 и 94% нематод соответственно. Супернатант *Bacillus subtilis* MGMM36 вызывал гибель 52 и 81% *C. elegans* при концентрации соответственно 1,25 и 2,5%. Эти супернатанты были токсичными и для нематод устойчивой к ивер-

мектину линии. В концентрации 1,25 % супернатант *Bacillus velezensis* MGMM30 вызывал гибель 83 % нематод линии DA1316, А супернатант *Bacillus subtilis* MGMM36 – 24 % *C. elegans*, устойчивых к ивермектину. Увеличение концентрации супернатантов до 2,5 % приводило к гибели более 90 % нематод линии DA1316 (таблица). Инкубация *C. elegans* в среде, содержащей 0,6 нг/мл ивермектина, в течение 24 ч приводила к гибели 80 % особей линии дикого типа N2 и всего лишь 9 % нематод мутантной линии DA1316 (таблица).

Оценка влияния культур бактерий на развитие и рост нематод

Наблюдение за состоянием нематод, выращиваемых на различных штаммах бактерий, позволило выявить бактерии, на которых нематоды развивались до полновозрелого состояния и задержки развития не наблюдалось. Нематоды при этом активно двигались по поверхности колоний микроорганизмов, численность популяции была высокой. Результаты наблюдений приведены на рис. 2.

Действие супернатантов бактерий и ивермектина
на линии *Caenorhabditis elegans*

	Доля нематод, погибших за 24 ч, %			
	Концентрация супернатанта, %			
	1,25	2,5	1,25	2,5
	Линия N2		Линия DA1316	
MGMM30	85±3	94±2	83±3	96±1
MGMM36	52±4	81±3	24±3	93±2
Ивермектин 0,6 нг/мл	80±3		9±2	

Примечание: составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

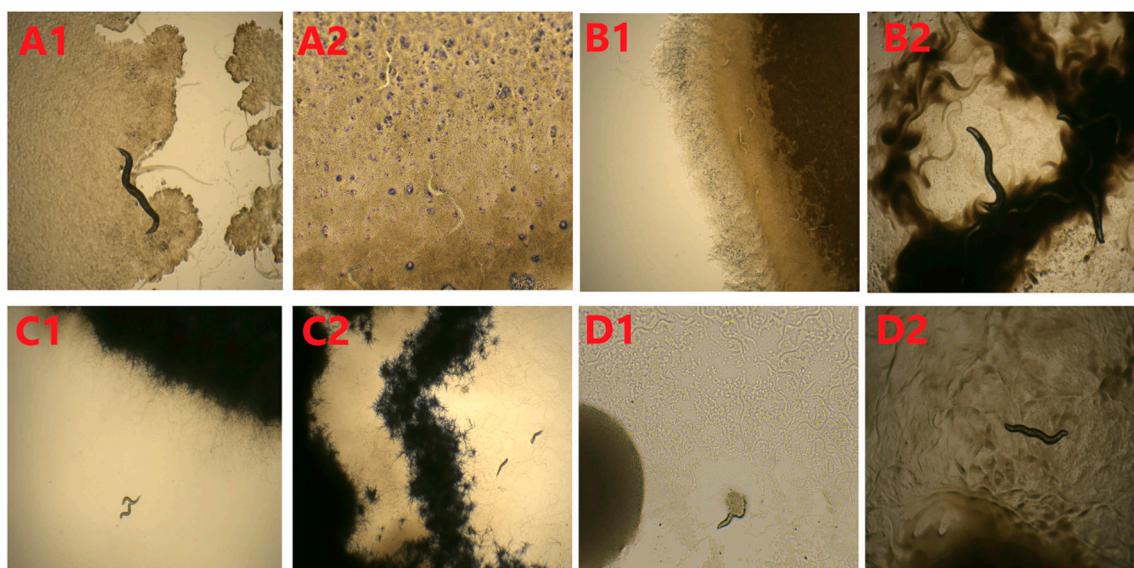


Рис. 2. Развитие нематод на 1-е и 7-е сутки при инкубации с бактериальными культурами на чашке Петри: А1 – 1-й день после инкубации яиц нематод со штаммом MGMM30, А2 – 7-й день после инкубации со штаммом MGMM30, В1 – 1-й день после инкубации со штаммом MGMM36, В2 – 7-й день после инкубации со штаммом MGMM36, С1 – 1-й день после инкубации со штаммом MGMM37, С2 – 7-й день после инкубации со штаммом MGMM37, Д1 – 1-й день после инкубации со штаммом MGMM57, Д2 – 7-й день после инкубации со штаммом MGMM57

Примечание: на рисунке приведены оригинальные фотографии, сделанные авторами в ходе исследования

На *Bacillus velezensis* MGMM30 нематоды достигали половозрелого состояния, но их численность была невысокой (рис. 2, А1, А2). Штамм *Bacillus subtilis* MGMM36 не оказывал какого-либо нематодостатического действия. На рис. 2, В1, видно движение нематод на бактериальной культуре, а на рис. 2, В2, видно развитие крупных нематод в большом количестве.

Особый интерес представляют микроборганизмы, на которых развитие нематод начиналось с задержкой, либо происходила гибель организма. Так, после 7 суток инкубации нематод на *Streptomyces sp.* MGMM37 (рис. 2С1, С2), погибали уже

на стадии L1, поэтому на поверхности агар-пластинки были видны лишь единичные особи, которые не оставляли потомства и погибали к 4-му дню наблюдений. Колонии *Bacillus thuringiensis* MGMM57 замедляли развитие нематод из яиц (рис. 2Д1) и к концу инкубации, на 7-й день, наблюдались только единичные представители.

Действие бактерий на организм *C. elegans* изучают, выращивая нематод на среде с тестируемыми микроорганизмами в течение двух-трех недель [17]. При этом нематод ежедневно переносят в новые чашки Петри со средой выращивания и бактериями, одновременно подсчитывают число живых

вых и погибших особей. Погрешность результатов такого эксперимента высокая из-за того, что часть нематод может погружаться в толщу агара либо подвергаться лизису под действием экзометаболитов бактерий. Для сокращения продолжительности эксперимента и повышения точности результатов авторы предложили проводить эксперимент в жидкой среде оценивать нематоцидную активность не интактных бактерий, а не содержащие клетки супернатанты. Такой подход позволяет получить результат в течение нескольких суток или даже нескольких часов. В проведенных авторами экспериментах токсичность супернатантов *Bacillus velezensis* MGMM30 и *Bacillus subtilis* MGMM36 в концентрации 1,25 и 2,5% для *C. elegans* проявлялась уже через 24 ч (таблица).

Борьба с фитопаразитическими нематодами, обитающими в почве, затрудняется наличием у них кутикулы, защищающей тело как от механических повреждений, так и от проникновения в организм веществ из окружающей среды. Основной пищей нематод являются бактерии, и это является предпосылкой использования микроорганизмов для борьбы с фитогельминтами [17]. Токсины, содержащиеся в бактериях, могут оказывать не только острое токсическое действие, приводящее к гибели нематод, но и изменять физиологическое состояние взрослых особей, нарушая их размножение. Поэтому авторы исследовали особенности роста культуры *C. elegans* при кормлении разными видами бактерий. Результаты, представленные на рис. 2, показывают перспективность такого подхода. В этой работе были выявлены штаммы микроорганизмов (*Streptomyces* sp. MGMM37 и *Bacillus thuringiensis* MGMM57), которые вызывали задержку эмбрионального развития *C. elegans* и гибель личинок без достижения ими половой зрелости.

В качестве позитивного контроля при изучении действия супернатантов бактерий в экспериментах использовали ивермектин. В качестве нематоцидного препарата ивермектин используется с 1980-х гг. Ивермектин связывается с глутамат-зависимыми СГканалами (GluCls) [22, 23], вызывая паралич локомоторных мышц и мышц глотки у *C. elegans*. У паразитических нематод *Trichostrongylus colubriformis*, *B. malayi* и *H. contortus* и некоторых других ивермектин нарушает пищевое поведение [22, 23]. Устойчивость к ивермектину у *C. elegans* контролируется тремя генами (*avr-15*, *avr-14* и *glc-1*), которые кодируют α-субъединицы GluCls [22, 23]. Высокая чувствительность *C. elegans* линии дикого

типа N2 к супернатантам бактерий *Bacillus subtilis* MGMM36 и *Bacillus velezensis* MGMM30 в концентрации 1,25 и 2,5%, выявленная авторами, позволяет сделать вывод о том, что эти супернатанты содержат вещества с нематоцидной активностью. Чувствительность к исследованным супернатантам нематод линии DA1316, устойчивой к ивермектину, свидетельствует о том, что они содержат вещества с нематоцидной активностью, механизм действия которых отличается от механизма действия ивермектина.

Выходы

1. В экспериментах с *Caenorhabditis elegans* линии дикого типа N2 и мутантной линии DA1316, устойчивой к ивермектину, выявлена высокая нематоцидная активность супернатантов бактерий *Bacillus velezensis* MGMM30 и *Bacillus subtilis* MGMM36 в концентрации 1,25 и 2,5%.
2. Лабораторная культура нематоды *Caenorhabditis elegans* может быть использована для скрининга супернатантов разных штаммов бактерий на нематоцидную активность.
3. Лабораторная культура нематоды *Caenorhabditis elegans* может быть использована для выявления штаммов бактерий, подавляющих развитие нематод на ранних стадиях. В дальнейшем эти штаммы могут быть использованы для борьбы с фитопатогенными нематодами в открытом грунте, тепличных хозяйствах и при хранении продукции растениеводства.
4. Химический анализ супернатантов и вторичных метаболитов бактерий, подавляющих развитие нематод, может стать основой для разработки средств борьбы с фитопатогенными нематодами.

Список литературы

1. Migunova V.D., Sasanelli N. Bacteria as biocontrol tool against phytoparasitic nematodes // Plants. 2021. Vol. 10. Article 389. DOI: 10.3390/plants10020389.
2. Pires D., Vicente C.S.L., Menéndez E., Faria J.M.S., Rusinque L., Camacho M.J., Inácio M.L. The fight against plant-parasitic nematodes: current status of bacterial and fungal biocontrol agents // Pathogens. 2022. Vol. 11. Article 1178. DOI: 10.3390/pathogens11101178.
3. Zou Y., Liu Z., Chen Y., Wang Y., Feng S. Crop rotation and diversification in china: enhancing sustainable agriculture and resilience // Agriculture. 2024. Vol. 14. Article 1465. DOI: 10.3390/agriculture14091465.
4. Ahmad Md.F., Ahmad F.A., Alsayegh A.A., Zeyauallah Md., AlSharani A.M., Muzammil K., Saati A.A., Wahab S., Elbendary E.Y., Kamal N., Abdelrahman M.H., Hussain S. Pesticides impact on human health and the environment with their mechanisms of action and possible countermeasures // Heliyon. 2024. Vol. 10. E29128. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e29128.
5. Sasanelli N., Konrat A., Migunova V., Toderas I., Iurcu-Straistaru E., Rusu S., Bivol A., Andoni C., Veronico P. Review on control methods against plant parasitic nematodes ap-

- plied in southern member states (C zone) of the European Union // Agriculture. 2021. Vol. 11. Article 602. DOI: 10.3390/agriculture11070602.
6. Sánchez-Bayo F. Insecticides mode of action in relation to their toxicity to non-target organisms // J. Environ. Analytic Toxicol. 2011. Vol. S4. e002. DOI: 10.4172/2161-0525.s4-002.
 7. Wang C., Yao X., Li X., Wang Q., Jiang N., Hu X., Lv H., Mu B., Wang J. Fosthiazate, a soil-applied nematicide, induces oxidative stress, neurotoxicity and transcriptome aberrations in earthworm (*Eisenia fetida*) // J. Hazard. Mater. 2024. Vol. 463. Article 132865. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.132865.
 8. Radwan W.H., Abdelhafez A.A.M., Mahgoub A.E., Zayed M.S. *Streptomyces avermitilis* MICNEMA2022: a new biovariorial strain for producing abamectin as an integrated nematode management agent // BMC Microbiol. 2024. Vol. 24. Article 329. DOI: 10.1186/s12866-024-03466-3.
 9. Liang L.-M., Zou C.-G., Xu J., Zhang Ke-Q. Signal pathways involved in microbe-nematode interactions provide new insights into the biocontrol of plant-parasitic nematodes // Philos. Trans. R. Soc. B. 2019. Vol. 374. Article 20180317. DOI: 10.1098/rstb.2018.0317.
 10. Soliman G.M., Ameen H.H., Abdel-Aziz S.M., El-Sayed G.M. *In vitro* evaluation of some isolated bacteria against the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita* // BNRC. 2019. Vol. 43. P. 2–7. DOI: 10.1186/s42269-019-0200-0.
 11. Diabankana R.G.C., Shulga E.U., Validov S.Z., Afordoanyi D.M. Genetic characteristics and enzymatic activities of *Bacillus velezensis* KS04AU as a stable biocontrol agent against phytopathogens // Int. J. Plant Biol. 2022. Vol. 13. P. 201–222. DOI: 10.3390/ijpb13030018.
 12. Diabankana R.G.C., Zhamalbekova A.A., Shakirova A.E., Vasiuk V.I., Filimonova M.N., Validov S.Z., Safin R.I., Afordoanyi D.M. Genomic insights of wheat root-associated *Lysinibacillus fusiformis* reveal its related functional traits for bioremediation of soil contaminated with petroleum products // Microorganisms. 2024. Vol. 12. Article 2377. DOI: 10.3390/microorganisms12112377.
 13. Diabankana R.G.C., Frolov M., Islamov B., Shulga E., Filimonova M.N., Afordoanyi D.M., Validov S. Identification and aggressiveness of Fusarium species associated with onion bulb (*Allium cepa* L.) during storage // J. Fungi. 2024. Vol. 10. Article 161. DOI: 10.3390/jof10020161.
 14. Bhat A.A., Shakeel A., Wagar S., Handoo Z.A., Khan A.A. Microbes vs. nematodes: insight into biocontrol through antagonistic organisms to control root-knot nematodes // Plants. 2023. Vol. 12. Article 451. DOI: 10.3390/plants12030451.
 15. Meneely P.M., Dahlberg C.L., Rose J.K. Working with worms: *Caenorhabditis elegans* as a model organism // Curr. Prot. Essent. Lab. Tech. 2019. Vol. 19. e35. DOI: 10.1002/cpet.35.
 16. Salinas G., Risi G. *Caenorhabditis elegans*: nature and nurture gift to nematode parasitologists // Parasitology. 2018. Vol. 145. P. 979–987. DOI: 10.1017/S0031182017002165.
 17. Couillault C., Ewbank J.J. Diverse bacteria are pathogens of *Caenorhabditis elegans* // Infect. Immun. 2002. Vol. 70. P. 4705–4707. DOI: 10.1128/IAI.70.8.4705-4707.2002.
 18. Sambrook J., Russell D.W. Molecular cloning: A laboratory manual. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 336 p. ISBN 978-087969577-4.
 19. Weisburg W.G., Barns S.M., Pelletier D.A., Lane D.J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study // J. Bacteriol. 1991. Vol. 173. P. 697–703. DOI: 10.1128/jb.173.2.697-703.1991.
 20. Belov T., Terenzhev D., Bushmeleva K.N., Davydova L., Burkin K., Fitsev I., Gatiyatullina A., Egorova A., Nikitin E. Comparative analysis of chemical profile and biological activity of *Juniperus communis* L. berry extracts // Plants. 2023. Vol. 12. Article 3401. DOI: 10.3390/plants12193401.
 21. Porta-de-la-Riva M., Fontrodona L., Villanueva A., Cerón J. Basic *Caenorhabditis elegans* methods: synchronization and observation // J. Viz. Exp. 2012. Vol. 64. e4019. DOI: 10.3791/4019.
 22. Hahnel S.R., Dilks C.M., Heisler I., Andersen E.C., Kulke D. *Caenorhabditis elegans* in antihelmintic research – Old model, new perspectives // Int. J. Parasitol. Drugs. 2020. Vol. 14. P. 237–248. DOI: 10.1016/j.ijpddr.2020.09.005.
 23. Dent J.A., Smith M.M., Vassilatis D.K., Avery L. The genetics of ivermectin resistance in *Caenorhabditis elegans* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97. P. 2674–2679. DOI: 10.1073/pnas.97.6.2674.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование: Работа выполнена в рамках Государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН № 124050300050-4 и Государственного задания Академии наук Республики Татарстан.

Financing: The work was performed within the framework of the State Assignment of the FIT KazNC RAS No. 124050300050-4 and the State Assignment of the Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan.