

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2025.55.3>

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТОТОКСИЧНОСТИ СИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ (*XENORHABDUS BOVIENII*) ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ НЕМАТОД НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ *SOLANUM LYCOPERSICUM* MILL.

Научная статья

Котова З.П.^{1,*}, Данилов Л.Г.²

¹ORCID : 0000-0002-9770-0809;

²ORCID : 0000-0003-3623-1081;

¹Северо-Западный Центр междисциплинарных исследований проблем продовольственного обеспечения - обособленное структурное подразделение Санкт-Петербургского Федерального исследовательского центра РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (zinaida_kotova[at]mail.ru)

Аннотация

В статье приведена оценка фитотоксичности продуктов метаболизма симбиотических бактерий *Xenorhabdus nematophilus* – симбионтов нематод вида *Steinernema carpocapsae*, а также *X. bovienii* – симбионта нематод *S. feltiae* и *S. feltiae protense* по показателям прорастания семян томата сорта Новичок (всхожесть) и интенсивности начального роста семян (длина побегов и корней, фитомасса корней). Предпосевная обработка семян томата продуктами метаболизма симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод с различным титром живых и автоклавированных культур 10^3 , 10^5 и 10^7 КОЕ/мл. Исследованиями выявлено, что наибольшей фитотоксичностью обладает штамм *S. carpocapsae* во всех концентрациях, подавляя начало прорастания семян при сравнении с контролем (обработка водой) на 20-63%, уменьшая длину корней на 14-92%. Ростостимулирующими свойствами обладают симбиотические бактерии энтомопатогенных нематод *S. feltiae* и *S. feltiae protense*, проявляя высокий уровень биологического воздействия при концентрации 10^5 КОЭ/мл.

Ключевые слова: фитотоксичность, энтомопатогенные нематоды, томат, всхожесть, биометрические показатели.

DETERMINATION OF PHYTOTOXICITY OF SYMBIOTIC BACTERIA (*XENORHABDUS BOVIENII*) OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES AT THE INITIAL STAGES OF DEVELOPMENT OF *SOLANUM LYCOPERSICUM* MILL.

Research article

Kotova Z.P.^{1,*}, Danilov L.G.²

¹ORCID : 0000-0002-9770-0809;

²ORCID : 0000-0003-3623-1081;

¹Interdisciplinary Research of Food Supply Problems is a separate structural subdivision of the St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation

²All-Russian Research Institute of Plant Protection, Saint-Petersburg, Russian Federation

* Corresponding author (zinaida_kotova[at]mail.ru)

Abstract

The article presents an evaluation of phytotoxicity of metabolic products of symbiotic bacteria *Xenorhabdus nematophilus* – symbionts of nematodes of *Steinernema carpocapsae* species, as well as *X. bovienii* – symbiont of nematodes *S. feltiae* and *S. feltiae protense* on indicators of germination of tomato seeds of Novichok variety (germination) and intensity of initial seed growth (length of shoots and roots, phytomass of roots). Pre-sowing treatment of tomato seeds with products of metabolism of symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes with different titres of live and autoclaved cultures 10^3 , 10^5 and 10^7 CFU/ml. The studies showed that the greatest phytotoxicity is possessed by *S. carpocapsae* strain in all concentrations, suppressing the start of seed germination in comparison with the control (water treatment) by 20-63%, reducing the length of roots by 14-92%. Symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes *S. feltiae* and *S. feltiae protense* have growth-stimulating properties, showing a high level of biological effect at a concentration of 10^5 CFU/mg.

Keywords: phytotoxicity, entomopathogenic nematodes, tomato, germination, biometric parameters.

Введение

Имеющиеся современные технологии возделывания сельскохозяйственных культур предусматривают обязательные приемы, обеспечивающие стимулирование растений на начальных этапах развития с целью получения более устойчивых к различным болезням и вредителям, например, обработки и протравливание семян, опрыскивание посевов пестицидами. Такие способы борьбы экологически небезопасны, поэтому требуется дальнейший поиск и создание менее токсичных аналогов средств защиты. Мировая тенденция сокращения доз внесения агрохимикатов определяет возрастание необходимости использования в растениеводстве новых, дополнительных источников минерального питания и биологических средств защиты растений [1], [2], [3]. Использование микроорганизмов, в том числе и энтомопатогенных нематод (ЭПН), в биологической борьбе с насекомыми-вредителями и болезнями

повсеместно повысилось и приобретает особую значимость в современном сельскохозяйственном производстве. Энтомопатогенные нематоды семейств *Steinernematidae* и *Heterorhabditidae* и их симбиотические бактерии широко изучаются во всем мире. Виды рода *Xenorhabdus* spp. являются граммотрицательными энтомопатогенными бактериями, которые живут в симбиозе с нематодами рода *Steinernema* [4]. После проникновения в тело насекомого нематоды выпускают в гемоцель хозяина бактерии, которые быстро размножаются и производят различные метаболиты, как *in vivo* так и *in vitro* условиях, которые преодолевая иммунную систему насекомых, убивают одновременно подавляя рост различных грибковых и бактериальных симбионтов предотвращая гниение труп насекомых, что способствуют развитию нематод нематодно-бактериального комплекса [5]. Продукция вторичных метаболитов с антибиотическими свойствами является общей характеристикой энтомопатогенных бактерий *Xenorhabdus* spp. Эти метаболиты не только имеют разнообразную химическую структуру, но также обладают широким спектром биологической активности с медицинскими и сельскохозяйственными интересами, такими как антибиотики, противогрибковые и инсектицидные, нематоцидные и противоязвенные, противоопухолевые и противовирусные. Исследованиями доказано, что антибактериальная активность бесклеточных культур симбиотических бактерий не снижается после хранения их при комнатной температуре в течение 6 дней, но при 37°C антибиотики распадаются через 4-5 дней. Автоклавирование при 121°C в течение 10 мин не влияет на антибиотическую активность бесклеточных культур [6]. Целью проводимых исследований было изучение фитотоксичности живых и автоклавированных культур симбиотических бактерий рода *Xenorhabdus*, энтомопатогенных нематод сем. *Steinernematidae*, на ранних стадиях развития растений при внесении этих патогенов в почву в качестве средства защиты растений от насекомых и возбудителей заболеваний.

Методы и принципы исследования

Лабораторные исследования проводились на базе Всероссийского Института защиты растений (г. Пушкин). Виды и штаммы симбиотических бактерий, используемые в экспериментах, были получены путем заражения гусениц большой вошинной моли (*Galleria mellonella*) видами нематод *S. carpocapsae*, *S. feltiae* и *S. feltiae protense*. Трупы погибших от заражения нематодами насекомых поверхностно стерилизовали в 70% спирте в течение 2 мин. и помещали для сушки в ламинарный поток воздуха в течение 3 мин. Затем из ложноножки отдельной гусеницы стерильно отбирали каплю гемолимфы, которую переносили в чашку Петри на питательную среду NBTA и инкубировали при 26°C. После 72 часов отбирали чистые колонии симбиотических бактерий (зеленые) из колоний одинакового размера и морфологии. Идентификацию первичных форм симбиотических бактерий проводили по методу Акюрста [7]. В лабораторных опытах при оценке влияния симбиотических бактерий и продуктов их метаболизма на возбудителей заболеваний картофеля грибные патогены высевали в чашки Петри на среду Чапека и выращивали при 25 °C в течение 5–7 суток. В качестве контроля использовали среду NBTA без симбиотических бактерий. Все варианты опытов и контроля были заложены в 4-х кратной повторности.

Культура: томат штамбовый среднеранний, сорт Новичок (*Lycopersicon esculentum* var. *validum*) [8]. Фитотоксичность проверяли в модельных опытах на семенах томата с использованием культуры бактерий вида *X. nematophila* – симбионта нематод *S. carpocapsae* и *X. bovienii* – симбионта нематод *S. feltiae*, *X. bovienii* – симбионта нематод *S. feltiae protense*. Титр живых и автоклавированных культур имел три концентрации: 10^3 (1), 10^5 (2) и 10^7 (3) КОЕ/мг. Экспозиция замачивания - 2 часа. В опыте использовали 2 типа контроля: контроль 1 – сухие семена; контроль 2 – семена замачивали в стерильной воде на 2 часа. Обработанные семена проращивали на увлажненных ватных матрасиках (по 10 мл стерильной воды) в чашках Петри (рис. 1). Повторность опыта 3-кратная, по 10 семян на чашку. Через каждые двое суток добавляли по 1-2 мл воды для увлажнения матрасиков. Учет всхожести проводили на 7-е и 9-е сутки.

Статистическая обработка полученных данных проведена с применением метода дисперсионного анализа Excel и ANOVA в программе Statistica.

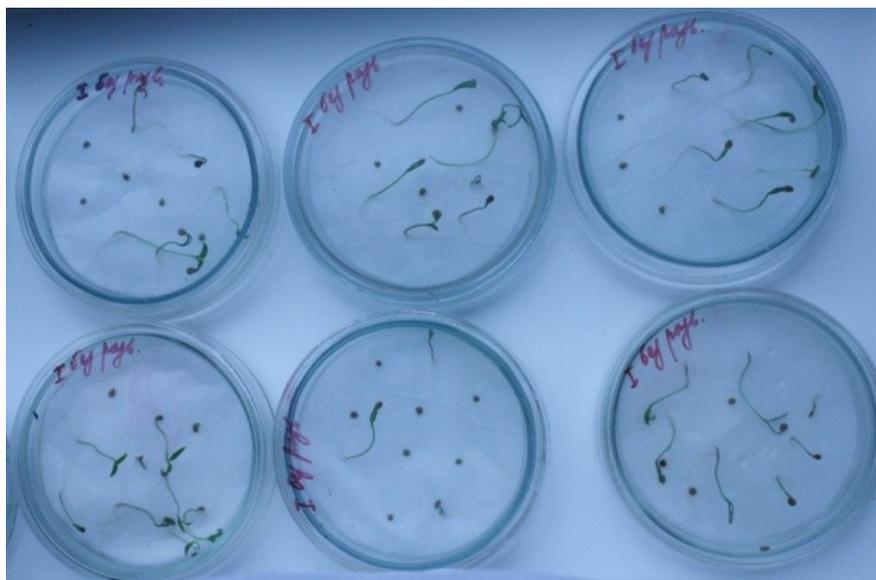


Рисунок 1 - Проращивание обработанных семян на увлажненных ватных матрасиках
DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2025.55.3.1>

Основные результаты и обсуждение

В лабораторных условиях нами изучено действие различных концентраций продуктов метаболизма трех изолятов симбиотических бактерий рода *Xenorhabdus* на ювенильной стадии развития семян томата. Установлено, что различные штаммы симбионтов ЭПН неоднозначно влияют на всхожесть семян томата (табл.1). Так, штамм симбиотических бактерий *S. carpocapsae* во всех концентрациях подавлял начало прорастания семян по сравнению с контрольным вариантом 2 (замачивание) на 30-57% на 7-е сутки и 20-63% на 9-е сутки. Наибольшая всхожесть на 7-9-й день была получена от применения автоклавированной культуры при концентрации 10^3 КОЭ/мг симбиотических бактерий *S. feltiae*, на 27 % и 37% по сравнению с контролем 2 (замачивание), соответственно.

Таблица 1 - Показатели всхожести семян в зависимости от действия симбиотических бактерий рода *Xenorhabdus spp*

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2025.55.3.2>

Энтомопатогенные нематоды	Время экс., сут.	Всхожесть, %							
		Живая культура бактерий, титр (КОЭ/мг)			Автоклавированная культура бактерий, титр (КОЭ/мг)			контроль	
		10^3	10^5	10^7	10^3	10^5	10^7	H ₂ O	сухой
<i>S. carpocapsae</i>	7	27	27	10	3	10	30	60	27
	9	40	50	23	7	17	43	70	33
<i>S. feltiae protense</i>	7	53	47	30	40	23	43	43	47
	9	53	47	37	43	27	47	47	50
<i>S. feltiae</i>	7	50	53	23	70	33	47	43	47
	9	53	60	37	80*	37	53	47	50
НСР ₀₉₅		2,08							

Исследования биометрических показателей с проведением сравнительной оценки фитотоксичности симбиотических бактерий первичных форм продуцентов *Xenorhabdus*, симбионтов различных видов ЭПН на растения показали достоверное увеличение длины стебля на 25% при обработке живой культурой *S. feltiae protense* в концентрации 10^5 КОЭ/мг. Применение автоклавированной культуры штамма *S. feltiae* в концентрации 10^3 и 10^7 КОЭ/мг также влияла на увеличение длины стебля на 37,5 и 12,5%, соответственно. Живые культуры всех исследуемых штаммов бактерий в концентрации 10^7 КОЭ/мг вызывали ингибирование роста стеблей (рис.2, а).

При применении штамма симбиотических бактерий *S. carpocapsae* в различных концентрациях как живой, так и автоклавированной культуры наблюдали ингибирование длины стебля, 16-68 % относительно второго контроля (обработка водой). Как видно из представленных данных в таблице 2, отмечено замедление процессов роста основного корня в обработанных штаммами вариантах и всеми концентрациями по сравнению с контролями вариантами. Только

обработка живой культурой штамма *S. feltiae protense* в концентрации 10^5 способствовала росту корня на 26% по сравнению с первым контрольным вариантом (рис.2, б).

Обработка семян томата живой культурой *S. feltiae protense* в концентрации 10^5 КОЭ/мг и автоклавированной культурой в концентрации 10^3 и 10^7 КОЭ/мг способствовали достоверному увеличению массы корней на 10-40 %, соответственно. (рис.2, в). В исследованиях других авторов также отмечается положительное влияние на рост и развитие томата препарата Гамаир, СП и штамма *B. velezensis* BZR 336g. Стимулирующее действие регуляторов роста было направлено в основном на корневую систему растений. При этом происходило преимущественно увеличение массы корня растений томата за счет модификации действия антиоксидантных ферментов [9], [10].

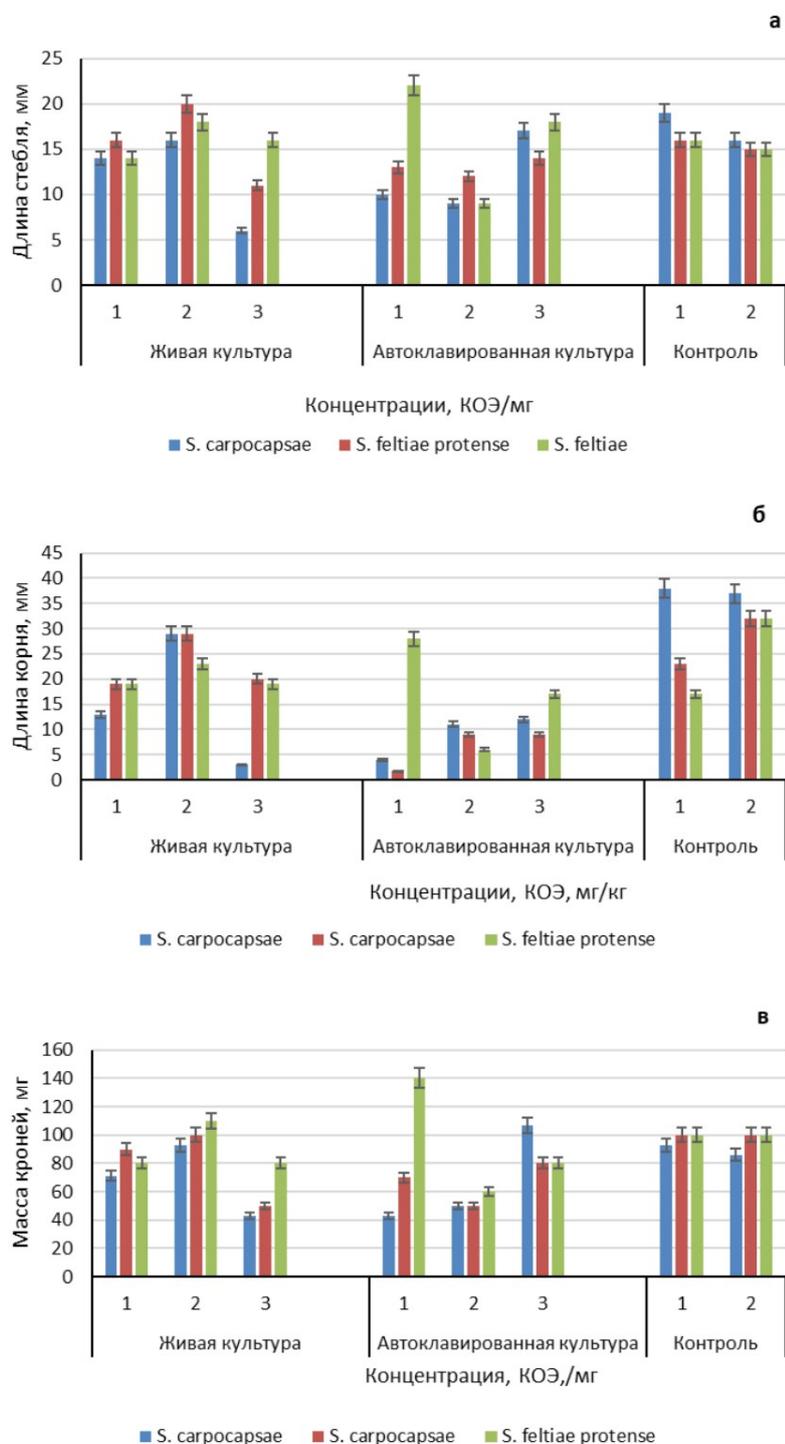


Рисунок 2 - Влияние штаммов симбиотических бактерий – симбионтов *S. carpocapsae*, *S. feltiae protense*, *S. feltiae* на биометрические показатели растений томата:

а - длина стебля, мм; б - длина корня, мм; в - масса корня, мг; концентрации: 1 – 10^3 ; 2 – 10^5 ; 3 – 10^7 ; контроль: 1 – сухой; 2 – обработка водой

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2025.55.3.3>

Из всех представленных вариантов выраженным стимулирующим действием на прорастание семян томата обладают живые культуры бактерий-симбионтов *S. feltiae protense* и *S. feltiae* в концентрации 10^5 КОЭ/мг и автоклавированные культуры в более низкой концентрации – 10^3 КОЭ/мг, которые способствовали увеличению всхожести, длине стебля, длине и массе корне.

Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, фитотоксичность симбиотических бактерий *Xenorhabdus bovienii* энтомопатогенных нематод *S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. feltiae protense*. на начальных этапах развития томата зависит от штамма бактерии и его концентрации. Исследованиями выявлено, что живые штаммы симбиотических бактерий более фитотоксичны, чем автоклавированные. Наибольшей фитотоксичностью обладает штамм *S. carpocapsae*. Симбиотические бактерии энтомопатогенных нематод *S. feltiae* и *S. feltiae protense* обладают хорошо выраженным ростостимулирующим свойством и проявляют высокий уровень биологического воздействия при концентрации 10^5 КОЭ/мг.

Полученные результаты подчеркивают значительный потенциал симбиотических бактерий *Xenorhabdus bovienii* энтомопатогенных нематод *S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. feltiae* в качестве полифункционального биологического средства для увеличения всхожести, влияния на ростовые процессы. Они дают практическую информацию для их применения в качестве средств повышения устойчивости и защиты сельскохозяйственных культур от вредителей и болезней.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда и Санкт-Петербургского научного фонда (проект № 24-26-20029).

Funding

The work was supported by Russian Science Foundation and St Petersburg Science Foundation (project № 24-26-20029).

Конфликт интересов

Не указан.

Conflict of Interest

None declared.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Максимов И.В. Стимулирующий рост бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам / И.В. Максимов, С.В. Веселова, Т.В. Нужная [и др.] // Физиология растений. — 2015. — Т. 62. — № 6. — С. 763–775.
2. Домрачева Л.И. Микробы-антагонисты против фитопатогенных бактерий и грибов (обзор) / Л.И. Домрачева, С.Г. Скугорева, П.А. Стариков [и др.] // Теоретическая и прикладная экология. — 2022. — № 2. — С. 6–14.
3. Доброхотов С.А. Эффективность микробиологических препаратов против основных вредителей овощных, ягодных культур и картофеля в Ленинградской области / С.А. Доброхотов, А.И. Анисимов, С.Д. Гришечкина [и др.] // Сельскохозяйственная биология. — 2015. — Т. 50. — № 5. — С. 694–704
4. Voemare N. Biology, Taxonomy and Systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* / N. Voemare // *Entomopathogenic Nematology* / Ed. by R. Gaugler. — Wallingford: CABI Publishing, 2002. — P. 35–56.
5. Akhurst R.J. Tripartite interactions between symbiotically associated entomopathogenic bacteria, nematodes, and their insect hosts / R.J. Akhurst, G.B. Dunphy // *Parasites and Pathogens of Insects*. — 1993. — Vol. 2. — P. 1–23.
6. Fodor A. Comparative analysis of antibacterial activities of *Xenorhabdus* species on related and non-related bacteria in vivo / A. Fodor, A.M. Fodor, S. Forst [et al.] // *Journal of Microbiology and Antimicrobials*. — 2010. — Vol. 2 (4). — P. 36–46.
7. Akhurst R.J. Morphological and Functional Dimorphism in *Xenorhabdus* spp., Bacteria Symbiotically Associated with the Insect Pathogenic Nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* / R.J. Akhurst // *Journal of General Microbiology*. — 1980. — Vol. 121. — №2. — P. 303–309.
8. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Сорты растений (официальное издание). — М., 2018. — Т. 1. — 504 с.
9. Жевнова Н.А. Влияние обработки семян микробиологическими препаратами и регуляторами роста на биометрические характеристики растений томата / Н.А. Жевнова, Е.А. Гырнец, А.А. Цыгичко [и др.] // Картофель и овощи. — 2021. — № 11. — С. 13–17.
10. Singh A. Tomato seed bio-priming with *Pseudomonas aeruginosa* strain PAR: a study on plant growth parameters under sodium fluoride stress / A. Singh, A. Patani, M. Patel [et al.] // *Front. Microbiol. Sec. Microbe and Virus Interactions with Plants*. — 2023. — Vol. 14. — DOI: 10.3389/fmicb.2023.1330071.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Maksimov I.V. Stimulirujushhij rost bakterii v reguljaciji ustojchivosti rastenij k stressovym faktoram [Growth-stimulating bacteria in the regulation of plant resistance to stress factors] / I.V. Maksimov, S.V. Veselova, T.V. Nuzhnaja [et al.] // *Fiziologija rastenij* [Plant Physiology]. — 2015. — Vol. 62. — № 6. — P. 763–775. [in Russian]

2. Domracheva L.I. Mikroby-antagonisty protiv fitopatogennyh bakterij i gribov (obzor) [Microbes-antagonists against of phytopathogenic bacteria and fungi (review)] / L.I. Domracheva, S.G. Skugoreva, P.A. Starikov [et al.] // Teoreticheskaja i prikladnaja jekologija [Theoretical and Applied Ecology]. — 2022. — № 2. — P. 6–14. [in Russian]
3. Dobrohotov S.A. Jefferektivnost' mikrobiologicheskikh preparatov protiv osnovnyh vreditelej ovoshhnyh, jagodnyh kul'tur i kartofelja v Leningradskoj oblasti [The main pests microbiological control in vegetable, baccate crops and potato in leningrad province] / S.A. Dobrohotov, A.I. Anisimov, S.D. Grischechkina [et al.] // Sel'skohozjajstvennaja biologija [Agricultural Biology]. — 2015. — Vol. 50. — № 5. — P. 694–704 [in Russian]
4. Boemare N. Biology, Taxonomy and Systematics of Photorhabdus and Xenorhabdus / N. Boemare // Entomopathogenic Nematology / Ed. by R. Gaugler. — Wallingford: CABI Publishing, 2002. — P. 35–56.
5. Akhurst R.J. Tripartite interactions between symbiotically associated entomopathogenic bacteria, nematodes, and their insect hosts / R.J. Akhurst, G.B. Dunphy // Parasites and Pathogens of Insects. — 1993. — Vol. 2. — P. 1–23.
6. Fodor A. Comparative analysis of antibacterial activities of Xenorhabdus species on related and non-related bacteria in vivo / A. Fodor, A.M. Fodor, S. Forst [et al.] // Journal of Microbiology and Antimicrobials. — 2010. — Vol. 2 (4). — P. 36–46.
7. Akhurst R.J. Morphological and Functional Dimorphism in Xenorhabdus spp., Bacteria Symbiotically Associated with the Insect Pathogenic Nematodes Neoaplectana and Heterorhabditis / R.J. Akhurst // Journal of General Microbiology. — 1980. — Vol. 121. — №2. — P. 303-309.
8. Gosudarstvennyj reestr selekcionnyh dostizhenij, dopushhennyh k ispol'zovaniju. Sorta rastenij (oficial'noe izdanie) [The State Register of Breeding Achievements Authorised for Use. Plant Varieties (official edition)]. — M., 2018. — Vol. 1. — 504 p. [in Russian]
9. Zhevnova N.A. Vlijanie obrabotki semjan mikrobiologicheskimi preparatami i reguljatorami rosta na biometricheskie harakteristiki rastenij tomata [Effect of seed treatment with microbiological preparations and growth regulators on biometric characteristics of tomato plants] / N.A. Zhevnova, E.A. Gyrnec, A.A. Cygichko [et al.] // Kartofel' i ovoshhi [Potatoes and Vegetables]. — 2021. — № 11. — P. 13–17.
10. Singh A. Tomato seed bio-priming with Pseudomonas aeruginosa strain PAR: a study on plant growth parameters under sodium fluoride stress / A. Singh, A. Patani, M. Patel [et al.] // Front. Microbiol. Sec. Microbe and Virus Interactions with Plants. — 2023. — Vol. 14. — DOI: 10.3389/fmicb.2023.1330071.