

*На правах рукописи*

**КОЗЫРЕВА Наталия Ивановна**

**НЕМАТОДЫ СЕМЕЙСТВА TRICHOODORIDAE И  
ИХ РОЛЬ В РАСПРОСТРАНЕНИИ ВИРУСНЫХ  
БОЛЕЗНЕЙ НА КАРТОФЕЛЕ  
В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

Специальность: 03.00.19 - паразитология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Москва – 2008**

Работа выполнена в Лаборатории фитопаразитологии Центра паразитологии Института проблем экологии и эволюции имени А.Н.Северцова РАН

**Научный руководитель:** главный научный сотрудник Центра паразитологии ИПЭЭ РАН, доктор биологических наук Н.Д. Романенко

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук С.Э. Спиридонов

доктор биологических наук, профессор А.А. Шестеперов

**Ведущая организация:** РГАУ - МСХА им. К.А. Тимирязева (г. Москва)

Защита диссертации состоится \_\_\_\_\_ декабря 2008 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 002.213.03 при Институте проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, Факс: (495) 9523146, e-mail: [centrparasitol@mail.ru](mailto:centrparasitol@mail.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук РАН и Центра паразитологии Института проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ ноября 2008 года

Размещен на сайте ВАК [www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru)

Ученый секретарь  
Диссертационного совета,  
к.б.н.

Т.А. Малютина

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Фитопаразитические нематоды сем. *Trichodoridae* относятся к эктопаразитам корневой системы растений и вызывают значительное снижение урожая сельскохозяйственных культур. В результате деятельности этих нематод появляются симптомы болезни «оборванных корней» («stubby root») - укороченные корни с галлами на кончиках, что приводит к угнетению роста растений, а иногда к их гибели. Имеется немало фактов гибели растений от триходорид. Так, Ферриз и Браун (Ferraz & Brown, 2002) отмечали, что потери урожая, вызываемые триходоридами, нередко составляют 30-50%, и это считается обычным явлением. Интерес к изучению нематод семейства *Trichodoridae* значительно возрос в последние 3 десятилетия, в связи с выявлением их способности переносить тобравирусы – группу палочковидных вирусов, поражающих более 400 видов растений (Гиббс, Харрисон, 1976). В настоящее время известно, что к переносу вирусов способны лишь 13 из 75 видов нематод триходорид родов *Trichodorus* и *Paratrichodorus*, которые переносят три вида тобравирусов (погремковости табака, раннего побурения гороха и кольцевой пятнистости перца), наносящих существенный вред широкому кругу растений, особенно декоративным луковичным и картофелю. Таким образом, стала очевидной двойственная роль некоторых представителей семейства *Trichodoridae* в качестве паразитов корневой системы и переносчиков вирусных инфекций (Романенко, 1993, 2006; Вайшер, Браун, 2001; Raski & Hewitt 1963; Ayala & Alen, 1966, 1968; Brown et al., 1966, 1990; Cooper & Thomas, 1970; Santos et al., 1997). Было установлено, что нематоды-переносчики сохраняют способность передавать вирусы даже после двухлетнего пребывания в почве, свободной от растений - хозяев, и через несколько лет вновь поражают растения. Детальное комплексное изучение тобравирусов и их переносчиков нематод–триходорид, их видового разнообразия, вредоносности, вопросов их биологии, экологии и взаимосвязи, начато относительно недавно и в настоящее время эти исследования интенсивно продолжаются (Козырева 1995; Романенко, 2000, 2006; Вайшер, Браун, 2001; Романенко и др., 2008; Ploed et. al., 1992, Kozyreva, 2001; Karanastasi et al., 2006; Kumari et al., 2007). В связи с вышесказанным изучение триходорид и переносимых ими тобравирусов является весьма актуальным направлением как в области науки, так и сельскохозяйственной практики.

**Цель и задачи исследований.** Работа была направлена на изучение видового состава, вредоносности нематод семейства *Trichodoridae*, особенностей их экологии, пространственного распределения в почвенном профиле и факторов, оказывающих влияние на их численность и распространение, а также изучение их роли в распространении

тобравирuсов на картофеле в Московской области.

Конкретными задачами исследований были:

1. Выявление видового состава, изучение характера распространения нематод семейства *Trichodoridae* как в естественных фитоценозах, так и в агроценозах Московской области.
2. Изучение влияния почвенно-климатических и биотических факторов на частоту встречаемости, численность и видовой состав нематод-триходорид.
3. Изучение вертикального распределения нематод-триходорид в почвенном профиле и сезонной динамики их численности на протяжении вегетационного периода.
4. Изучение сопряженности распространения нематод-триходорид и тобравирuса погремковости табака (TRV) в картофельных посадках.
5. Изучение распространения вирусa погремковости табака на различных сортах картофеля на фоне комплексной вирусной инфекции.
6. Оценка биологической и хозяйственной эффективности применения биопрепаратов, полученных на основе грибов и бактерий-антагонистов против нематод триходорид и ассоциированных с ними фитопатогенных вирусов, грибов и бактерий при выращивании и хранении картофеля.

### Научная новизна.

Впервые в условиях Московской области были изучены видовой состав, распространение и численность нематод семейства *Trichodoridae* как в естественных фитоценозах, так и в сельскохозяйственных угодьях. Вид *Paratrichodorus teres* впервые зарегистрирован на территории РФ.

Впервые в РФ начаты исследования в области изучения экологии нематод–триходорид, установлена зависимость их численности и распространения от почвенно-климатических и биотических факторов, изучены вертикальное распределение триходорид в почвенном профиле и сезонная динамика их численности на протяжении вегетационного периода.

Впервые в РФ установлена сопряженность распространения и взаимосвязь локализации нематод сем. *Trichodoridae* и тобравирuсов в картофельных посадках Московской области. Определена корреляционная зависимость между распространением тобравирuса погремковости табака (TRV) и нематодами триходоридами на примере видов *Trichodorus primitivus* и *Trichodorus similis* на картофеле.

Впервые в РФ проведено изучение распространения вирусa погремковости табака (TRV) на различных сортах картофеля на фоне комплексной вирусной инфекции, и впервые проведена апробация отечественного диагностикума ИФА к вирусу погремковости табака.

### **Основные положения, выдвигаемые на защиту:**

1. Новые сведения по видовому составу и особенностям распространения нематод семейства *Trichodoridae* в различных фитоценозах Московской области.

2. Оценка влияния факторов среды обитания на численность и распространение триходорид в условиях Московской области и динамику их численности в почвенном профиле на протяжении вегетационного периода.

3. Роль триходорид в распространении tobравируса погремковости табака (TRV) на различных сортах картофеля в условиях Московской области.

4. Оценка применения биопрепаратов на основе бактерий-антагонистов рода *Pseudomonas* в качестве экологически безопасных способов снижения и подавления численности нематод-триходорид и пораженности растений-хозяев картофеля комплексом вирусных, грибных и бактериальных инфекций.

### **Практическая ценность работы**

В условиях Московской области выявлены опасные фитопаразитические нематоды сем. *Trichodoridae*, являющиеся переносчиками tobравирусов, поражающих ряд сельскохозяйственных культур, в частности, картофель.

Установлены особенности распространения триходорид в различных фитоценозах, в том числе в сельскохозяйственных угодьях, в зависимости от почвенно-климатических и биотических факторов.

Установлена сопряженность распространения и взаимосвязь локализации нематод триходорид и tobравируса погремковости табака (TRV) в картофельных посадках Московской области.

Впервые в условиях РФ использован отечественный диагностикум для ИФА к вирусу погремковости табака, проведена оценка его эффективности в лабораторных и полевых условиях, в результате чего был выявлен высокий уровень поражения TRV обследованных посадок картофеля.

В результате лабораторных и промышленных испытаний биопрепарата планриз, созданного на основе бактерии *Pseudomonas fluorescens* (штамм AP-33) и других биоактивных штаммов *Pseudomonas* при выращивании и хранении картофеля продемонстрированы высокие фунгицидные, бактерицидные и нематодцидные свойства как биопрепарата планриз, так и большинства испытанных штаммов *Pseudomonas*, а также показано их положительное влияние на биологический и фактический урожай картофеля разных сортов.

**Апробация работы.** Материалы исследований по теме диссертации были представлены на научных конференциях: в Институте паразитологии РАН (в настоящее время Центр паразитологии ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН): в 1996, 1997, 1998 г.г.; Всероссийского института гельминтологии им. Скрыбина в 1995 г.; на I-ой Всероссийской конференции по свободноживущим и паразитическим нематодам (Борок, 1994); VI Всероссийском симпозиуме по популяционной биологии паразитов (Борок, 1996); Всероссийском совещании в Государственном научном учреждении Всероссийском селекционно-технологическом институте садоводства и питомниководства РАСХН (ГНУ-ВСТИСП-РАСХН) (Москва, 1998); 1-ом, 2-ом, 3-ем и 4-ом международных симпозиумах Российского общества нематологов в г. Москве и г. Санкт - Петербурге в 1995, 1997, 1999; 2001 годах.

**Публикация результатов исследований.** В основу работы положены оригинальные материалы автора, полученные в результате исследований нематод-триходорид на территории России, собранные на протяжении 10 лет. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ на русском (17) и английском (3) языках в отечественных и международных изданиях.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, 11 разделов, выводов, списка использованных литературных источников и приложений. Материалы диссертации изложены на 140 страницах текста, содержат 20 таблиц, 7 рисунков. Список использованной литературы содержит 247 наименований, из которых 170 на иностранном языке.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Глава I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР**

Обобщены литературные данные, касающиеся нематод семейства Trichodoridae и их роли в распространении вирусных болезней на картофеле в Московской области. Приведена краткая характеристика нематод семейства Trichodoridae, их таксономическое разнообразие, положение в системе класса Nematoda. Обобщены литературные сведения о географическом распространении в мире и в СНГ. Проанализированы данные по вопросам экологии триходорид. Особое внимание уделено влиянию почвенно-климатических и биотических факторов на распространение и численность триходорид, а также их вертикальному распределению в почвенном профиле и характеру сезонной динамики численности на протяжении срока вегетации. Обобщена отечественная и зарубежная литература, касающаяся передачи нематодами -

триходоридами тобравирусов и их ассоциативные связи с другими вирусами картофеля, обсуждены проблемы, касающиеся различных способов и методов идентификации вируса погремковости табака (TRV), переносимого триходоридами. Проведен анализ отечественной и зарубежной литературы по вопросам использования экологически безопасных способов и средств снижения численности и вредоносности нематод триходорид и переносимых ими тобравирусов, а также ассоциированных с ними других вредных организмов (грибов и бактерий) при выращивании и хранении картофеля.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

В главе 2 приводится характеристика стационаров исследования. Сбор материала, представленного почвенными и растительными образцами, проводился на территории Москвы на экспериментальном участке Института паразитологии РАН и в 6 районах Московской области: Талдомском, Ленинском, Красногорском, Пушкинском, Люберецком, Подольском районах в период с 1992 по 2000 годы. Всего было отобрано 512 почвенных и 1032 растительных образцов.

В почвенных образцах определяли гранулометрический состав, кислотность почвы и содержание основных элементов минерального питания на базе лаборатории агрохимии и почвоведения НИЗИСНП (ныне ГНУ ВСТИСП РАСХН) под руководством н.с. Дебеловой Д.Д. Определение азота проводилось методом Корнфильда, подвижных соединений фосфора - методом Кирсанова, обменный калий определяли методом пламенной фотометрии (метод Кирсанова). Определение степени кислотности почв (рН) проводили электрометрическим методом (Минеев, 1989). Определение численности и видового состава триходорид и других групп нематод проводили на базе лаборатории ИНПА РАН. Извлечение нематод из почвенных образцов осуществлялось методом просеивания и декантации по Коббу (Cobb, 1913) и методом Флегга (Flegg, 1967).

В разделе «Методика и схемы опытов» приводится описание методики вегетационного опыта по изучению влияния элементов минерального питания на численность нематод семейства Trichodoridae, в основу которого была положена методика, описанная Д.Н.Прянишниковым (1963), а также рекомендации, данные зав. лабораторией агрохимии и почвоведения ГНУ ВСТИСП РАСХН к.с/х.н. И.Г. Попеско. Изучение влияния почвенно-климатических условий на колебание численности триходорид в почве проводили с начала июня по конец сентября на стационаре ИНПА РАН по методике Метлицкого (Метлицкий, 1975, 1979).

Растительные образцы исследовали на зараженность вирусами на базе лаборатории вирусологии ОЗР ГБС РАН под руководством к.б.н.

Келдыш М.А. (диагностика TRV) в 1992-1994 годах и на базе ВНИИ картофельного хозяйства РАСХН под руководством к.б.н. В.П. Князевой (диагностика TRV и комплекса картофельных вирусов: XPV, YPV, SPV, MPV, PLRV) в 1995-2000 годах. При этом использовали иммуноферментный анализ или ELISA-метод (Атабеков и др., 1985). Работа по выявлению моноинфекции раттл-вируса и испытанию полученного в ВНИИКС опытного образца диагностической тест-системы была проведена под руководством к.б.н. Князевой В.П. на базе ВНИИКС в период с 1995 по 2000 г.г. Использовался «сэндвич» – вариант ИФА.

Исследования по эффективности применения биопрепаратов, полученных на основе грибов и бактерий – антагонистов, проводили с 1996 по 1998 год в полевых условиях на базе МСП «Измайловский» и экспериментального участка ИНПА РАН в Талдомском р-не Московской области по опубликованным методикам (Метлицкий и др., 1975). Обработка биопрепаратами клубней картофеля осуществлялась путем погружением в растворы, методом мелкодисперсного распыления на транспортной ленте водной суспензии препарата в концентрации 1 мл/л воды и путем опрыскивания вегетирующих растений. Для обработки полученных данных использовался дисперсионный анализ (Доспехов, 1985).

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Распространение нематод семейства *Trichodoridae* в Московской области

В результате изучения распространения нематод сем. *Trichodoridae* в 6 районах Московской области обнаружены 3 вида этого семейства, являющиеся представителями 2 родов: *Trichodorus similis*, *Trichodorus primitivus* и *Paratrichodorus teres*.

Обнаруженные виды регистрируются впервые на территории Московской области, а вид *P. teres* – впервые на территории России. В ходе исследований, проведенных в разных районах Московской области, были определены частота встречаемости и численность триходорид в различных фитоценозах. Нематоды семейства *Trichodoridae* были выявлены в почвах всех обследованных стационаров. Растениями-хозяевами этих видов нематод были 12 видов растений (7 видов культурных растений, 5 - дикорастущих). Преобладающим типом почв, в которых были обнаружены триходориды, были дерново-подзолистые почвы различной степени окультуренности. Триходориды не были обнаружены в почвах с развитым процессом оглеения, в заболоченных и глинистых почвах. Более подробно распространение триходорид в

зависимости от типов фитоценозов и видов растений-хозяев изучали на примере Талдомского района Московской области.

Триходориды чаще встречались в окультуренных почвах (обнаружены в 50% исследованных почв агроценозов), чем в почвах естественных фитоценозов (обнаружены в 11% исследованных почв). На окультуренных почвах триходориды были распространены более равномерно, их численность характеризовалась небольшими величинами и в большинстве почвенных образцов не превышала 70 особей/л почвы. В естественных фитоценозах распространение триходорид носило очаговый характер: численность триходорид была более высокая и достигала 450 особей/л. Установлены предпочтительные растения-хозяева для разных видов: для *T. primitivus* – картофель *Solanum tuberosum*, ячмень (*Hordeum vulgare*), земляника (*Fragaria vesca*), для *T. similis* – картофель, для *P. teres* – черная смородина (*Ribes nigrum*), яблоня (*Malus domestica*). Частота встречаемости триходорид на картофельных полях превышала 55%. Оба вида нематод, обнаруженных в посадках картофеля, являются переносчиками tobравирусов. При вирусологическом обследовании зараженного растительного материала на многих участках картофеля был выявлен tobравирус погремковости табака (Tobacco rattle virus), при этом частота совпадения очагов распространения триходорид и tobравирусов составляла 73%, что указывает на прямую зависимость между зараженностью растений картофеля tobравирусами и распространением этих нематод.

Численность триходорид по сравнению с другими группами нематод в разных почвах была невысокой: процентное содержание их от общей численности варьировало от 0,2 до 11% и достигало 32% в дерново-подзолистой почве дикого малинника, что указывает на агрегированность распространения этих нематод в почве, не подвергшейся механической обработке.

### **3.2. Влияние некоторых почвенных факторов на распространение нематод триходорид в почвах различных стационаров исследования**

#### **3.2.1. Влияние гранулометрического состава почвы**

В результате проведенных исследований было установлено, что с изменением гранулометрического состава почвы от супеси до тяжелого суглинка частота встречаемости триходорид уменьшалась (рис.1). Известно, что триходориды предпочитают легкие по механическому составу почвы, обеспечивающие оптимальную аэрацию и влажность (Taylor & Brown, 1997). Распространение триходорид в Московской области также связано с легкими песчаными и супесчаными почвами флювиогляциального происхождения. В единичных случаях триходориды

были отмечены также в грубопесчаной почве с примесью моренного галечника. Частота встречаемости этих нематод была ниже в легких и в средних суглинках, в тяжелых суглинках они встречались в единичных экземплярах, а в глинистых почвах вообще не были обнаружены. Таким образом, наблюдалась прямая зависимость частоты встречаемости триходорид от данного почвенного фактора в горизонтах 0-10 или 0-20 см. По результатам статистической обработки (неравномерный комплекс) можно констатировать статистически значимые различия между всеми вариантами на уровне 95% за исключением вариантов «легкий суглинок» и «средний суглинок», различия между которыми не превышают значения НСР.

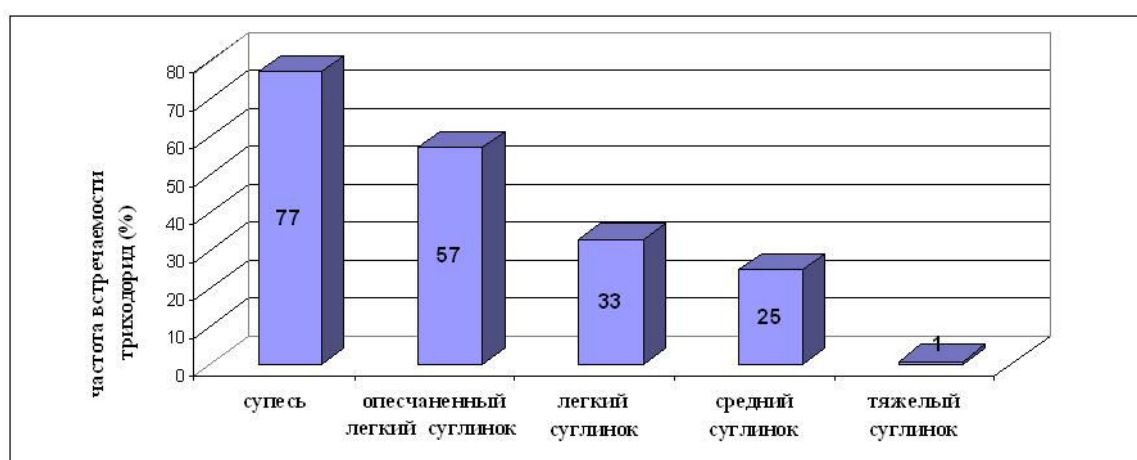


Рис. 1. Распространение триходорид в почвах различного механического состава (различия по отношению к «супеси»,  $P < 0,05$ .)

### 3.2.2. Влияние степени кислотности почвы (pH)

Известно, что для определенных видов нематод характерен определенный диапазон кислотности почвы, в котором их развитие протекает оптимально (Norton, 1978).

В почвах исследуемых стационаров кислотность почвенного раствора ( $pH_{KCl}$ ) колебалась от 4,3 до 7,5, т.е. от сильнокислой до слабощелочной реакции. В этом диапазоне были отмечены два вида триходорид: *T.primitivus* и *T.similis*, которые встречались в почвах с разной кислотностью: от сильнокислых до нейтральных (в диапазоне pH от 4,5 до 7,0). Нематоды вида *P. teres* предпочитали более щелочные почвы (pH от 6,3 до 7,5). В кислых почвах *T. primitivus* встречались наиболее часто, в отличие от *P. teres*, наибольшая частота встречаемости которого отмечена в почвах с нейтральной и слабощелочной реакцией среды (табл. 1).

Наибольшую плотность популяции *T. primitivus* наблюдали при  $pH_{KCl} = 4,5$ , т.е. в сильнокислой почве. При наличии других благоприятных факторов кислая среда, по-видимому, не препятствовала размножению этих нематод, т.к. численность их на этом участке естественного фитоценоза достигала 450 особей/л. В лугово-пойменных почвах с сильнокислой реакцией почвенного раствора численность *T. primitivus* варьировала от 8 до 81 особей/л.

Таблица 1. Распространение нематод семейства Trichodoridae в почвах различной степени кислотности

| Степень кислотности почвы  | pH      | Частота встречаемости нематод (%) |                              | Диапазоны численности нематод (особь/л) |                              |
|----------------------------|---------|-----------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------|
|                            |         | <i>Trichodorus primitivus</i>     | <i>Paratrichodorus teres</i> | <i>Trichodorus primitivus</i>           | <i>Paratrichodorus teres</i> |
| Сильно и среднекислые      | 4.0-5.0 | 5.8                               | -                            | 8-450                                   | -                            |
| Слабокислые                | 5.1-5.5 | 2.5                               | -                            | 10-21                                   | -                            |
| Близкие к нейтральным      | 5.6-6.5 | 5.2                               | 3.1                          | 1-80                                    | 10-71                        |
| Нейтральные, слабощелочные | 6.6-7.5 | 3.9                               | 5.9                          | 7-40                                    | 5-110                        |

При исследовании почв агроценозов, в частности картофельных полей, на которых проводились мероприятия по известкованию кислых почв, отмечено, что численность *T. primitivus* и *T. similis* характеризуется более низкими величинами, что связано, возможно, с более равномерным распределением нематод в пахотных горизонтах. Нематоды вида *P. teres* встречались преимущественно в окультуренных почвах плодово-ягодных культур с близкой к нейтральной или слабощелочной реакцией среды.

Таким образом, основываясь на частоте встречаемости и плотности популяций триходорид, можно заключить, что разные виды триходорид предпочитали различные по степени кислотности почвы.

### 3.3. Влияние основных элементов минерального питания на распространение триходорид

#### 3.3.1. Влияние элементов минерального питания (азота, фосфора и калия) по результатам вегетационного опыта

По данным вегетационного опыта внесение минеральных удобрений приводило к увеличению общей численности нематод в ризосфере земляники по сравнению с контролем. Однако общая численность нематод во всех вариантах была ниже, чем в естественной необработанной почве.

В случае триходорид, их численность также минимальна в контроле (единичные особи), повышалась при внесении удобрений (до 10-18 особей на сосуд) и достигала максимального уровня - в естественной (нестерильной) почве (до 30 особей). При внесении удобрений процентное содержание триходорид во всех вариантах опыта увеличилось, при этом наблюдали прямую зависимость между повышением дозы суперфосфата (до 0,478 г) и увеличением численности триходорид и их доли от общей численности. Внесение калийного удобрения также повышало численность и процент триходорид от общей численности нематод, особенно в варианте с повышенной дозой KCl (0,361 г), где доля триходорид была больше, чем в нестерильной почве. При внесении азотного удобрения на фоне достаточно высокого содержания фосфора и калия прослеживалась тенденция к увеличению общей численности всех видов нематод, и численности триходорид, в частности. С увеличением дозы аммиачной селитры до уровня 0,342 г численность триходорид также возрастала, но при внесении повышенной дозы (0,453 г) уровень численности этих нематод понижался.

Во время эксперимента оценивали рост исследуемых тест-растений земляники *Fragaria vesca*, являющихся хозяевами триходорид. Внесение удобрений привело во всех вариантах к увеличению высоты (роста) тест-растения по сравнению с контролем. Рост корней зависел прежде всего от содержания азота в почве. Очевидно, что за счет роста корней при внесении азота, увеличивалась численность триходорид и других паразитических видов нематод.

### **3.3.2. Распространение триходорид в почвах с разной обеспеченностью элементами минерального питания (азота, фосфора и калия).**

При исследовании почвенных образцов из различных фитоценозов триходориды были выявлены в почвах с различным уровнем содержания элементов минерального питания. По обеспеченности подвижными соединениями азота, фосфора и калия почвы были разделены на классы в соответствии с классификацией Минеева (1989).

Триходориды чаще встречались в почвах с повышенным содержанием азота (N). В результате исследований была выявлена тенденция к увеличению численности триходорид с повышением содержания азота (до 10 и более мг/100 г почвы), что связано с увеличением биомассы корней растений-хозяев. Так, в очагах обнаружения триходорид (с высокой плотностью популяции) содержание азота в почве составляло 14,5-15,6 мг/100 г, что соответствует очень высокому уровню обеспеченности. Однако, было установлено, что в почвах с содержанием азота на уровне 16,7-17,9 мг/100 г почвы численность триходорид значительно снижалась, по-видимому, за счет

отрицательного действия аммиачной среды на нематод (Мельник, Бумбу, 1991; Norton, 1978).

Для почв, в которых были обнаружены триходориды, установлен более широкий диапазон содержания подвижного **фосфора (Р)** по сравнению с азотом: от 6,3 до 66,0 мг/100 г почвы. Это показывает возможность распространения триходорид в почвах с разным содержанием фосфора. Частота встречаемости триходорид выше в почвах, богатых фосфором (11-13%), чем в почвах низко- и среднеобеспеченных (4-8%). Численность триходорид могла достигать высоких значений как при низком, так и при высоком содержании подвижного фосфора в почве (400 особей/л при  $P < 8 \text{ мг/100 г}$  и 110 особей/л при  $P > 30 \text{ мг/100 г}$  соответственно).

Триходориды были распространены в почвах с широким диапазоном содержания **калия**: от 5 до 72 мг/100 г почвы (от низкого до очень высокого уровня обеспеченности почв калием). Наиболее часто эти нематоды встречались в почвах, высокообеспеченных калием, но при этом они были обнаружены в 27% почв, бедных калием. Высокая численность триходорид наблюдалась как при низком (10,0 мг/100 г), так и при очень высоком (42,5 мг/100 г) содержании калия, а в необрабатываемой почве – при содержании калия всего 5 мг/100 г, что указывает на возможность достижения высокой численности популяции этих нематод в почве с низким содержанием калия при наличии других благоприятных условий. Полученные данные указывают, что низкий уровень калия не замедляет развитие триходорид (в отличие от некоторых других паразитических видов нематод, например, родов *Xiphinema* и *Meloidogyne* (Norton, 1978). Так, наибольшая плотность популяции *T. primitivus* в ризосфере малины наблюдалась при содержании:  $N=14,5 \text{ мг/100 г}$ ;  $P= 7,0 \text{ мг/100 г}$ ;  $K=5,0 \text{ мг/100 г}$ , а наибольшая численность *Paratrichodorus teres* в ризосфере яблони – при содержании:  $N= 14,8 \text{ мг/100 г}$ ;  $P=45 \text{ мг/100 г}$ ;  $K=10 \text{ мг/100 г}$  почвы.

### 3.4. Вертикальное распределение триходорид в почвенном профиле

В результате исследований, проведенных на протяжении вегетационного периода, были выявлены некоторые закономерности распределения триходорид (*Paratrichodorus teres*) в почвенном профиле в ризосфере яблони. Исследуемые почвенные горизонты (0-10 см, 11-40 см, 41-70 см) дерново-подзолистой супесчаной гумусированной почвы существенно различались по механическому составу (с глубиной почва становилась более глинистой) и влажности, а агрохимические характеристики были сходными.

Анализ вертикального распределения общей численности нематод в среднем по вариантам выявил существенные и достоверные различия ( $P <$

0,05) по горизонтам: между нижним (41-70 см) и двумя поверхностными (0-10, 11-40 см) и между 11-40 и 41-70 см. Было отмечено постепенное снижение общей численности нематод и численности триходорид вглубь почвенного профиля. Максимальную численность триходорид наблюдали в верхнем почвенном горизонте (0-10 см) в период высокой увлажненности почвы. Обычно для триходорид характерна невысокая численность у поверхности почвы в связи с их повышенной чувствительностью к недостатку влаги, за исключением периодов длительного выпадения осадков (Cooke & Draycott, 1971; Winfield & Cooke, 1984; Taylor & Brown, 1997). Принимая во внимание климатические особенности вегетационного периода в год наблюдений, становится понятным повышение численности триходорид в верхнем горизонте, который характеризовался повышенной влажностью в течение практически всего периода. В период, когда почва была недостаточно увлажнена, численность триходорид была максимальной на глубине залегания основной массы корней растения-хозяина. Следует отметить, что доля триходорид от общего количества нематод значительно повышалась в нижнем горизонте (40-70 см).

### **3.5. Сезонная динамика численности нематод семейства *Trichodoridae***

Сезонные изменения численности триходорид в зависимости от климатических факторов и физиологической активности растений-хозяев проводили на примере популяции *Paratrichodorus teres*. В результате изучения сезонной динамики численности *P. teres* в ризосфере яблони установлен двухпиковый характер колебаний численности во всех исследуемых почвенных горизонтах (0-10, 1-40, 41-70 см): первый пик численности приходился на июль, второй – на сентябрь, ( $P < 0,05$ ). Такой характер динамики связан с климатическими особенностями года наблюдения. Для фитопаразитов многолетних культур сезонная динамика характеризуется пиками численности в мае и сентябре, что совпадает с периодами физиологической активности растений-хозяев (Метлицкий и др., 1979; Романенко, 1973, 1993, 2008). При отклонении климатических условий (количества осадков, температуры) от среднемесячных, произошло смещение максимумов численности нематод во всех почвенных горизонтах. Так, первый пик численности *P. teres* наблюдали в более поздний срок (в июле), в связи с климатическими особенностями данного года - крайней сухостью мая и обильными осадками в конце июня, превышающими норму в два раза. В августе наблюдали существенный спад численности во всех почвенных горизонтах, что связано со снижением активности корнеобразования, а значит оскудением кормовой базы триходорид, пониженной влажностью этого месяца, а также

межвидовой конкуренцией различных групп эктопаразитов. В периоды высокой увлажненности почвы максимальная численность триходорид наблюдалась в верхнем почвенном горизонте, а при уменьшении осадков и повышении температуры максимум их численности был приурочен к глубине 11-70 см, где концентрировалась основная масса мелких и средних всасывающих корней. Так, в засушливый период (август), когда произошел спад численности триходорид во всем почвенном профиле, их численность и %-ое содержание были выше в нижележащих слоях по сравнению с верхним горизонтом. Перепады численности триходорид оказывались более существенными в верхнем горизонте, где изменения влажности были более значительны. Таким образом, было установлено, что сезонная динамика численности триходорид связана с динамикой активности корнеобразования растения-хозяина и зависела от таких характеристик, как влажность и температура почвы.

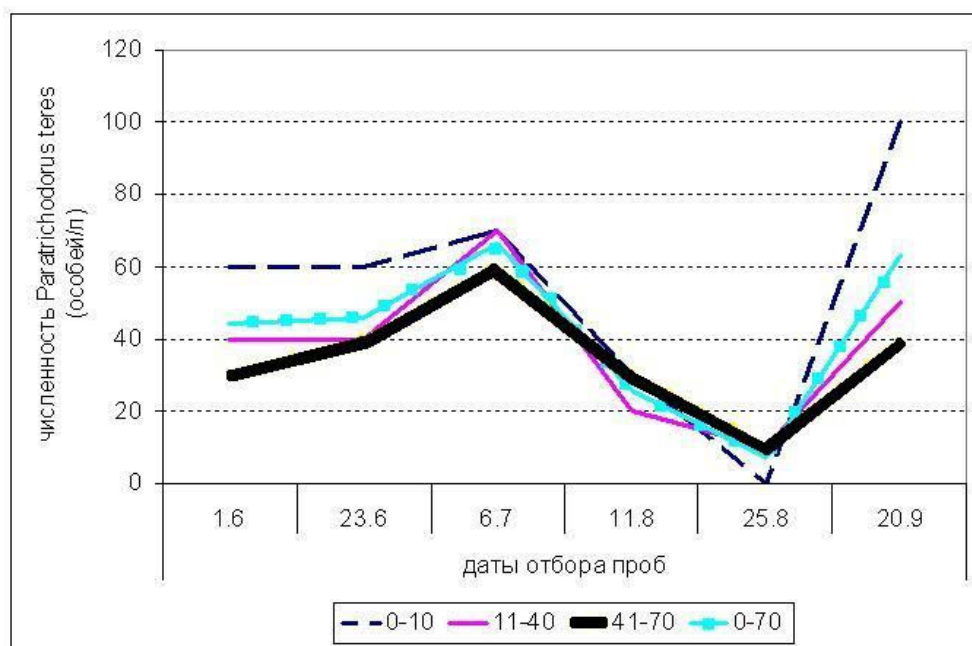


Рис. 2. Сезонная динамика численности *Paratrichodorus teres* (особей/1 л) в почвенном профиле (0-70 см) за период вегетации.

### 3.6. Комплексное распространение нематод-триходорид и вируса погремковости табака (TRV) в посадках картофеля

Наибольшее распространение триходорид отмечено в посадках картофеля, где были обнаружены два вида: *T. primitivus* и *T. similis*, которые являются переносчиками наиболее опасного на картофеле вируса погремковости табака (TRV, раттл-вирус).

Все обнаруженные нами в Московском регионе виды триходорид являются переносчиками тобравирусов: вид *Trichodorus primitivus* переносит вирус погремковости табака (TRV) и вирус раннего побурения гороха (PEBV), *Trichodorus similis* является переносчиком TRV, а *Paratrichodorus teres* - переносчиком PEBV (Brown & Trudgill, 1997). Взаимосвязь «вирус – переносчик» изучали на примере вируса погремковости табака и нематод – его переносчиков, причем особое внимание уделялось распространению вируса в посадках картофеля, где он наиболее опасен, и где частота встречаемости его переносчиков *T.primitivus* и *T. similis* достигала 55% (см. раздел 3.1.).

В результате вирусологического обследования картофельных посадок в Талдомском районе на протяжении двух вегетационных периодов (1992-1993 г.г.) почти на всех участках картофеля был выявлен вирус погремковости табака (TRV). Более половины обследованного растительного материала с симптомами вирусных заболеваний оказалось инфицированным TRV (Козырева, Романенко, Князева, 1995). Определена зависимость между распространением TRV и триходоридами на картофеле. Очаги заражения растений картофеля вирусом и нематодами в большинстве своем совпадали. В последующие годы наблюдения (1994-1999) отмечено дальнейшее распространение TRV в картофельных посадках на фоне комплексной вирусной инфекции. В целом, в 73% выявленных очагов триходорид растения картофеля были поражены вирусом погремковости табака. Коэффициент корреляции достигал 0,85.

Распространение TRV на картофеле происходило в основном на фоне комплексной вирусной инфекции, представленной вирусами, характерными для этой культуры: XPV (X- вирус картофеля), YPV (Y- вирус картофеля), SPV (S- вирус картофеля), MPV (M- вирус картофеля), PLRV (вирус скручивания листьев картофеля). В период с 1994 по 1999 годы установлено высокое поражение всех обследованных посадок картофеля преимущественно комплексом вирусов: от 2 и более вирусов в одном и том же образце отмечали в 75% отобранного растительного материала.

Таким образом, зараженность картофеля вирусом погремковости табака довольно значительна: в разные годы от 5 до 32% обследованного растительного материала было инфицировано TRV, причем отмечена тенденция к его дальнейшему распространению. Также обращает на себя внимание высокое поражение продовольственного картофеля вирусами XPV и SPV (до 90% и 86% обследованного растительного материала соответственно). Наиболее часто вирус погремковости табака наблюдался в комплексе с XPV и SPV (табл. 2), а также с YPV. Моноинфекция TRV встречалась крайне редко. На разных сортах картофеля комплексная вирусная инфекция проявлялась по-разному.

**Таблица 2. Распространение вирусных инфекций на картофеле в Талдомском районе Московской области (по результатам 6-летних наблюдений)**

| Вирусы | Год исследований                                         |     |     |     |     |     |                    |
|--------|----------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|--------------------|
|        | 1-й                                                      | 2-й | 3-й | 4-й | 5-й | 6-й | 6-й                |
|        | Картофельные поля<br>(Количество зараженных растений, %) |     |     |     |     |     | Частные<br>Посадки |
| TRV    | 27                                                       | 5   | 10  | 30  | 32  | 7   | 32                 |
| XPV    | 14                                                       | 11  | 20  | 28  | 34  | 90  | 75                 |
| YPV    | -                                                        | 21  | 24  | 8   | 11  | 7   | 4                  |
| SPV    | 96                                                       | 10  | 49  | 25  | 42  | 82  | 25                 |
| MPV    | 3                                                        | 10  | 50  | 28  | 54  | 40  | 42                 |

### **3.7. Распространение TRV на различных сортах картофеля**

В 1995-2000 годах были обследованы 10 сортов картофеля отечественной и зарубежной селекции из коллекционного и семенного фонда ВНИИКХ и МСП «Измайловский» на зараженность TRV.

При обследовании растительного материала коллекции семенных насаждений картофеля в ВНИИКХ (Люберецкий р-н) отмечено заражение почти всех сортов комплексом вирусов: 73% - комплексом SPV+YRV ( в том числе сорт Калинка - 100%), 47% - комплексами YPV+MPV и SPV+MPV. Вирус погремковости табака (TRV) обнаружен на сортах Калинка и Кварц, причем на первом из них TRV встречался на фоне 2 , а на втором – на фоне 3 вирусов. Одним из самых поражаемых вирусом погремковости табака оказался сорт Бербанк (коллекция ВНИИКХ). Наиболее часто TRV отмечали в комплексе с YPV, а в 12% обследованного материала TRV зафиксирован одновременно с PLRV. При обследовании посадок картофеля в МСП «Измайловский» раттл-вирус обнаружен на сортах Аноста, Романо, Орбита.

Таким образом, на 6 сортах картофеля (из 10 обследованных) был выявлен раттл-вирус. Практически на всех пораженных сортах TRV встречался на фоне комплексной вирусной инфекции. В 90% случаев TRV обнаружен одновременно с 2 и более вирусами, при этом для разных сортов были характерны разные вирусные ассоциации. На сорте Бербанк раттл-вирусу чаще сопутствовал YPV (100% зараженных TRV растений), реже – MPV (около 50%) и PLRV (около 30%). На сорте Аноста – почти на всех обследованных растениях раттл-вирусу сопутствовал SPV. На сорте

Орбита раттл-вирус встречался исключительно в комплексе с MPV и в 30% случаев с XPV. На сорте Романо раттл-вирусу сопутствовали XPV и SPV (в 100% случаев).

### **3.8. Выявление моноинфекции TRV, переносимого триходоридами, и оценка эффективности опытного образца диагностического набора ИФА для определения TRV**

В результате исследований, проведенных в 1997-1999 годах совместно с ВНИИКХ, была выполнена работа по выявлению моноинфекции TRV: а) на растениях картофеля, визуальнo отобранных из очагов поражения TRV; б) на проростках, выращенных из клубней картофеля после зимнего хранения, также отобранных с участков, пораженных раттл-вирусом.

В результате тестирования зараженного TRV растительного материала на наличие сопутствующих вирусов, моноинфекция TRV была выявлена лишь у 4,1% растительных образцов, которые в дальнейшем использовались в Биотехцентре ВНИИКХ для механической инокуляции растений табака турецкого с целью накопления биологически чистого материала, зараженного моноинфекцией раттл-вируса, и создания опытного образца диагностикума ИФА к TRV.

В результате проверки полученной в ВНИИКХ диагностической тест-системы ИФА для определения раттл-вируса на растениях картофеля с симптомами вирусных заболеваний, отобранных из очагов его распространения, вирус был выявлен в 170 из 205 образцов.

В 1999 году проведено испытание опытного образца диагностикума для ИФА раттл-вируса в производственных условиях в нескольких хозяйствах Московской области и на опытных полях. В результате тестирования раттл-вируса в отобранных образцах листьев картофеля с симптомами вирусных заболеваний, наличие TRV было выявлено в 85-90% исследованных образцов, отобранных с картофельных полей двух хозяйств Московской области. На опытных полях инфицированность TRV в среднем составляла 7%.

Полученные результаты показали высокую эффективность работы полученной тест-системы ИФА, которая обладает высокой специфичностью к TRV и позволяет обнаружить вирус в концентрации до 30 нг/мл сока. Все данные по распространению раттл-вируса в промышленных и частных посадках картофеля за 1998 г. (частично) и 1999 г., получены с помощью созданного в ВНИИКХ диагностикума.

### 3.9. Влияние грибов и бактерий–антагонистов на пораженность картофеля фитопатогенами

В 1996-1998 годах проводили изучение влияния биопрепаратов, созданных на основе грибов и бактерий-антагонистов на комплекс инфекционных заболеваний картофеля в период вегетации и при хранении. Эффективность применения биопрепарата планриз (ранее называемого ризоплан и созданного на основе бактерии *Pseudomonas fluorescens* (штамм AP-33)) изучали на протяжении трех лет в полевых и вегетационных опытах, используя различные способы обработки. В результате предпосадочной обработки клубней картофеля посредством распыления суспензии препарата отмечено значительное снижение пораженности растений комплексом фитопатогенов, как в сравнении с препаратом иммуноцитифитом (индуктором иммунитета на основе арахидоновой кислоты), так и с контролем. Предпосевная обработка планризом усиливала ризогенез, способствовала повышению вегетативной продуктивности на 3-5% и приводила к увеличению биологического урожая картофеля как в полевом, так и в вегетационном опытах, при различных способах обработки. Обработка надземных органов картофеля препаратом планриз в период вегетации (в период интенсивного побегообразования) не оказывало отрицательного воздействия на рост и развитие растений и приводило к заметному увеличению урожайности картофеля (на 26-39%). Обработка клубней картофеля 1-2 %-ной суспензией планриза перед закладкой клубней на зимнее хранение также оказалась довольно эффективной – процент здоровых незараженных клубней возрос более чем в три раза. В контроле - здоровых клубней 28%, при обработке клубней иммуноцитифитом – 43%, при обработке планризом – 92%.

Нематицидная активность некоторых штаммов *Ps. fluorescens*, доказанная на примере *Caenorhabditis elegans* и *Longidorus elongatus*, подтвердилась и в случае их использования против *Trichodorus primitivus*. Применение планриза (*Ps. fluorescens*, штамм AP-33) приводило к резкому снижению численности триходорид или полному их искоренению.

При погружении клубней картофеля сортов Невский, Лорх, Калинка в водную суспензию смеси штаммов *Pseudomonas spp.* наблюдали заметное снижение зараженности растений корневыми гнилями, особенно у сорта Калинка, и повышение урожайности (на 3-5%). Следует отметить, что при применении данной смеси штаммов практически исчезли визуальные признаки вирусных заболеваний при высадке растений.

Действие препарата триходермина (*Trichoderma viride*, штамм Р гриба) не оказало высокого положительного воздействия на биологическую продуктивность картофеля данных сортов, однако при обработке наблюдали снижение среднего балла поражения растений

инфекционными заболеваниями. В частности, пораженность картофеля фитопатогенными почвенными грибами (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp. и др.) снижалась на 10%. Также было отмечено, что триходермин не оказал фитотоксичного действия на рост и развитие растений картофеля.

Таким образом, в результате применения биопрепаратов на основе грибов и бактерий-антагонистов наблюдали подавление жизнедеятельности вредных почвенных микроорганизмов. В результате промышленных испытаний биопрепарата планриз при выращивании и хранении картофеля продемонстрированы не только его фунгицидные, бактерицидные, но и нематодцидные свойства, а также показано его положительное влияние на биологический и фактический урожай картофеля разных сортов. Предпосевная обработка клубней картофеля привела к увеличению урожайности на 5-40%, причем эффективными оказались оба метода обработки: погружения в раствор и распыления. Применение биопрепаратов при хранении картофеля снижало в 2-3 раза отходы от поражения сухой и мокрой гнилями, при этом резко повышалась лежкость клубней. Отмечено, что применяемые биопрепараты не обладали фитотоксичностью, способствовали клубнеобразованию, улучшению их товарного вида, способствовали их росту и развитию.

## ВЫВОДЫ

1. Впервые на территории Московской области обнаружено три вида нематод семейства Trichodoridae – переносчиков тобравирuсов: *Trichodorus primitivus*, *T. similis* и *Paratrichodorus teres*. Вид *Paratrichodorus teres* впервые обнаружен на территории России. Установлено широкое распространение триходорид в Московской области: они обнаружены в 50% исследуемых почв агроценозов и в 11% почв естественных фитоценозов.
2. Обнаружено, что распространение триходорид в естественных фитоценозах носит очаговый характер и плотность популяций в очагах достигает высоких значений (до 450 особей/л). На окультуренных почвах триходориды распространены более равномерно и их численность характеризуется небольшими величинами (менее 70 особей/л).
3. Триходориды обнаружены в ризосфере 12 культурных и дикорастущих видов растений. Установлены различия в гостальной предпочтительности у разных видов триходорид. Для *Trichodorus primitivus* предпочтительными растениями-хозяевами были – картофель, ячмень, земляника, для *Trichodorus similis* – картофель, для *Paratrichodorus teres* - черная смородина и яблоня.

4. Установлена прямая зависимость между гранулометрическим составом почвы и распространением триходорид, которые чаще встречаются в легких почвах. Обнаружено, что разные виды триходорид встречаются в почвах с разной кислотностью среды. Частота встречаемости *Paratrichodorus teres* максимальна в нейтральных почвах (pH =6,5-7,5). У видов *Trichodorus primitivus* и *Trichodorus similis* плотность популяции была выше в кислых почвах и эти виды встречались в более широком диапазоне pH (от 4,3 до 7,5).
5. По результатам вегетационного опыта установлено, что внесение минеральных удобрений (суперфосфата, аммиачной селитры, хлористого калия по отдельности) способствовало увеличению численности триходорид в ризосфере земляники. С повышением дозы вносимого удобрения наблюдали повышение численности триходорид.
6. Установлено, что оптимальным для развития триходорид было содержание азота в почве в пределах 14,5-15,6 мг/100 г. Обнаружено, что триходориды достигали высокой численности как при низком (7,0 мг/100 г), так и при высоком содержании (45,0 мг/100 г) подвижного фосфора в почве и при содержании калия в диапазоне 5-27 мг/100 г почвы.
7. На примере *Paratrichodorus teres* изучено вертикальное распределение нематод в почвенном профиле. Показано, что основными факторами, влияющими на численность этих нематод в различных слоях почвы, является глубина распределения корней растения-хозяина, влажность и механический состав почвы.
8. Установлено, что динамика численности *Paratrichodorus teres* в почвенном профиле в условиях Московской области характеризуется двумя пиками численности в течение вегетационного периода и связана с изменениями активности корнеобразования растения-хозяина и погодноклиматическими условиями. Наибольшие перепады численности отмечались в верхнем почвенном горизонте, где изменения влажности были более значительны.
9. Определена корреляционная зависимость между распространением tobравируса погрешковости табака (TRV, раттл-вирус) и триходоридами видов *Trichodorus primitivus* и *Trichodorus similis* на картофеле. В 73% выявленных очагов триходорид растения картофеля были поражены вирусом погрешковости табака ( $R=0,85$ ).
10. Распространение TRV на картофеле происходило на фоне комплексной вирусной инфекции и носило прогрессирующий характер: в разные годы от 5 до 32% посадок картофеля было инфицировано TRV.
11. При обследовании 10 сортов картофеля раттл-вирус выявлен на 6 сортах. Наиболее поражаемыми были сорта картофеля Орбита, Бербанк.

В 90% случаев TRV обнаружен одновременно с 2 и более вирусами (XPV, YPV, SPV, MPV, LRPV). Установлены вирусные ассоциации, включающие TRV, характерные для разных сортов картофеля. Выявлена моноинфекция TRV в естественных условиях.

12. В результате лабораторных и производственных испытаний отечественного образца диагностикума ИФА для определения раттл-вируса (TRV) установлен высокий уровень поражения TRV опытных и промышленных посадок картофеля, и показана высокая эффективность полученной тест-системы.

13. В результате промышленных испытаний биопрепарата планриз (*Pseudomonas fluorescens*, штамм AP-33) и других биоактивных штаммов *Pseudomonas* при выращивании и хранении картофеля продемонстрированы высокие фунгицидные, бактерицидные и нематоцидные свойства большинства штаммов *Pseudomonas*, биопрепарата планриз, а также показано их положительное влияние на биологический и фактический урожай картофеля разных сортов. Предпосевная обработка клубней картофеля планризом привела к увеличению урожайности на 5-40%

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

**Козырева Н.И.,** Романенко Н.Д., Князева В.П. Ассоциации вирусных болезней и нематод-триходорид (переносчиков тобравирусов) на картофеле в условиях Московской области // Ассоциативные паразитарные болезни, проблемы экологии и терапии, М., 1995, с. 97-81.

**Козырева Н.И.** К вопросу изучения фауны триходорид – переносчиков тобравирусов в Московской области // Систематика, таксономия и фауна паразитов (Матер. науч. конф. «Москва, 22-24 окт.»). М., 1996, с. 65-66.

Романенко Н.Д., **Козырева Н.И.** Изучение сезонной динамики нематод *Paratrichodorus teres* (Nematoda; Trichodoridae) в естественных и агроценозах // Сб. тез. докл. VII Всеросс. симп. по популяционной биологии паразитов, Борок, 1996, с. 74-75.

\*Романенко Н.Д., Буров Б.И., **Козырева Н.И.** Как сберечь выращенное // Защита растений, 1996, 9, с. 31.

**Козырева Н.И.** Изучение влияния грибов и бактерий-антагонистов на пораженность картофеля комплексом наиболее опасных фитопаразитов и его урожайность // Взаимоотношения паразитов и хозяина (Тез. докл. Всерос. научн. конференции, Москва, 8-10 дек., 1998 г.), М., 1998, с. 34.

- Романенко Н.Д., Рябченко Н.Ф., Субботин С.А., Буров Б.В., **Козырева Н.И.**, Стародубцев В.В. Основные достижения в изучении комплекса фитопаразитов (нематоды-вирусы-грибы-бактерии) и проблемы их биоконтроля в фитоценозах России // Теоретические и прикладные проблемы гельминтологии, (Мат. Всеросс. симпоз. "Роль российской школы гельминтологии в развитии паразитологии, М., 8-10 дек.. 1997). М., 1998, с. 198-209.
- Романенко Н.Д., Буров Б.И., Стародубцев В.В., **Козырева Н.И.** Основные достижения в изучении комплекса фитопаразитов и проблемы их биоконтроля в фитоценозах России // Теоретические и прикладные проблемы гельминтологии (Матер. Всерос. Симпозиума, 8-10 дек. 1997 г. Москва). М., 1998, с. 198-209.
- Романенко Н.Д., Буров Б.В., **Козырева Н.И.**, Стародубцев В.В. Изучение ассоциаций фитопаразитических нематод, грибов, вирусов и бактерий и проблемы их биоконтроля в естественных и агроценозах России // Современные проблемы микологии, альгологии и фитопатологии (Сб. трудов межд. конф.). М., 1998, с. 103-104.
- Романенко Н.Д., Субботин С.А., Буров Б.И., **Козырева Н.И.** Изучение взаимоотношений нематод, грибов, вирусов и бактерий – основа стратегии биологической защиты растений // Взаимоотношения паразита и хозяина (Тез. Всерос. науч.конф.). «М., 1998, с. 54.
- Романенко Н.Д., Буров Б.В., Корсак И.В., Стародубцев В.В., **Козырева Н.И.** Пути экологизации производства оздоровленного посадочного материала ягодных культур // Тез. Докл. Всерос. Совещ. ВСТИСП, М., 1998, с 77-79.
- Романенко Н.Д., Князева В.П., **Козырева Н.И.** Изучение тобравирюсов и нематод триходорид и разработка серологических методов диагностики вируса погрешности табака в России // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями (Матер. науч. конф.). М., 1999, с. 234-236.
- Romanenko N.D., **Kozyreva N.I.** Investigation of trichodorid nematodes (Nematoda: Trichodoridae) and tobnaviruses in Russia // Russian Journal of Nematology, 1998, v. 6, N 1, p.77.
- Romanenko E.N., Romanenko N.D., **Kozyreva N.I.** Coparative valuation of nematicidal activity of bioperation – rizoplan and biostimulator – immunocitophit after preplanting popatoes processing // Abst. of the Third Intern. Nematology Symposium, St.-Petersburg, 1999, P. 69.
- Романенко Н.Д., Корсак И.В., Буров Б.В., Стародубцев В.В., Чичагин А.А., Катанина Г.Е., Щеглова И.А., **Козырева Н.И.** К вопросу разработки экологически безопасной технологии длительного хранения картофеля с использованием бактерий-антагонистов комплексного действия // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями, (Матер. науч. конф.). М., 1999, с. 236-239.

**Козырева Н.И.** Влияние грибов и бактерий-антагонистов на пораженность картофеля комплексом наиболее опасных фитопаразитов и его урожайность // Труды ИНПА РАН, М., 1999, с. 41-44.

\*Романенко Н.Д., Буров Б.И., Стародубцев В.В., **Козырева Н.И.** Фитокомплексы в ценозах // Защита растений 2000, 9, с. 27.

**Kozyreva N.I.** The distribution of tobacco rattle virus and trichodorid nematodes in potato fields of the Moscow region // Russian J. Nematology, 2001, V. 2, p. 150.

\*Кулинич О.А., Тюльдюков П.В., **Козырева Н.И.** Фитопаразитические нематоды, имеющие карантинное значение для России и других стран мира // Защита и карантин растений, 2003, с. 24-28.

\***Козырева Н.И.**, Романенко Н.Д. Распространение нематод семейства Trichodoridae – переносчиков тобравирусов в Московской области // Паразитология, 2008, 11, , 42(5), с. 428-434.

\*Романенко Н.Д., Заец В.Г., **Козырева Н.И.**, Попов И.О. , Таболин С.Б. Биологические средства защиты растений в борьбе с фитопаразитическими нематодами, другими патогенами и перспективы их использования в XXI веке // Вестник Российского университета дружбы народов, сер. Агрономия и животноводство. 2008, 2, с. 39-51.

\* - Публикации в периодических изданиях списка ВАК