

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛАССИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *PHYTOPHTHORA* ИЗ ПОЧВЫ И РАСТЕНИЙ

COMPARATIVE ANALYSIS OF CLASSICAL LABORATORY METHODS FOR ISOLATION OF REPRESENTATIVES OF THE GENUS *PHYTOPHTHORA* FROM SOIL AND PLANTS

Бондарева Е.В.^{1,2}, Калембет И.Н.¹

¹ ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ)

143050, Россия, Московская область, Одинцовский район, р.п. Большие Вяземы, ул. Институт, владение 5

² Московский государственный университет

им. М.В. Ломоносова

119991, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1

E-mail: Bondarevaev@yandex.ru, traktorishki@list.ru

Bondareva E.V.^{1,2}, Kalemбет I.N.¹

¹ All-Russian Research Institute of Phytopatology (VNIIF)

Institute st., 5, Bolshie Vyazomy, Odintsovsky district, Moscow region 143050, Russia

² Moscow State University named by M.V. Lomonosov

Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia

E-mail: Bondarevaev@yandex.ru, traktorishki@list.ru

В статье дано описание лабораторных методов выделения представителей рода *Phytophthora* из почвы и тканей растений (биоприманки, посев на питательные среды, флотация и др.). В настоящее время большая интерес представляет вопрос предотвращения развития корневых гнилей плодовых и ягодных культур, среди причин возникновения которых выделяют активность почвенных микромицетов. На экспериментальном материале был проведен анализ возможности применения классических методов идентификации возбудителей фитофтороза (оомицеты рода *Phytophthora*) в почве и элементах растений (плодовые насаждения) в рутинных обследованиях. Установлено, что метод биоприманок имеет определенное преимущество перед методом посева. С помощью биоприманок можно проанализировать большой объем почвы, в отличие от приема посева на твердую питательную среду, где можно поместить небольшое количество почвы в объем чашки Петри. Но метод флотации позволяет получить результат быстрее, чем метод приманок. Предлагаем для решения фитопатологических задач при обследовании плодовых и ягодных культур использовать комплексный подход, сочетающий метод флотации и/или приманок с ломтиками яблока и посева на специализированные питательные среды (томатный или морковный агар).

Ключевые слова: фитофтора, корневые гнили, диагностика, почва, растение, флотация, метод приманок, питательная среда, томатный агар, плодовые культуры.

Для цитирования: Бондарева Е.В., Калембет И.Н.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛАССИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *PHYTOPHTHORA* ИЗ ПОЧВЫ И РАСТЕНИЙ. Аграрная наука. 2019; (1): 113-117. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-1-113-117>

The article describes laboratory methods for isolating members of the *Phytophthora* genus from soil and plant tissues (bio baits, inoculation of medium, flotation, etc.). Currently, of great interest is the issue of preventing the development of root rot of fruit and berry crops, among the causes of which are the activity of soil micromycetes. The experimental material was used to analyze the possibility of using classical methods of identifying late blight pathogens (*Phytophthora* oomycetes) in the soil and plant elements (fruit plantations) in routine examinations. It has been established that the bio bait method has a certain advantage over the seeding method. Using bio baits, it is possible to analyze a large volume of soil, in contrast to the method of planting on solid nutrient medium, where a small amount of soil can be placed in the volume of a Petri dish. But the flotation method allows you to get results faster than the bait method. We suggest using an integrated approach for solving phytopathological problems when examining fruit and berry crops, combining the method of flotation and / or bait with apple slices and planting on specialized nutrient media (tomato or carrot agar).

Key words: *Phytophthora*, root rot, diagnostics, soil, flotation, bait method, inoculation of medium, tomato agar, fruit.

For citation: Bondareva E.V., Kalemбет I.N. COMPARATIVE ANALYSIS OF CLASSICAL LABORATORY METHODS FOR ISOLATION OF REPRESENTATIVES OF THE GENUS *PHYTOPHTHORA* FROM SOIL AND PLANTS. Agrarian science. 2019; (1): 113-117. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-1-113-117>

Фитофтороз наносит огромный урон сельскому хозяйству во всем мире, приводит к значительным экономическим потерям. Вид *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary — первый определенный представитель этого рода, один из опаснейших патогенов пасленовых культур, включая томаты и картофель.

Возбудители фитофтороза, оомицеты рода *Phytophthora*, в основном поражают двудольные растения, и среди видов этого рода выявлено значительное количество специфических фитопатогенов для земляники и др. Так, заражение патогеном *Phytophthora fragariae* Hickman вызывает красную стелу, известную также как болезнь Ланакшира и может привести к потере 60% посадок восприимчивых сортов земляники, от 45% до 100% выпадов растений малины [1]. Проводимые исследования показали, что есть два разных биотипа *P. fragariae*: *P. fragariae* var. *fragariae*, который

поражает землянику, и *P. fragariae* var. *rubi* — патоген малины. В настоящее время последний считается отдельным видом, *Phytophthora rubi* [1]. Причиной фитофторозных корневых гнилей древесных пород часто становится вид *Phytophthora ramorum* Werres, De Cock & Man in 't Veld. Именно этот возбудитель фитофтороза привел к стремительному сокращению территорий, занимаемых дубами в Калифорнии и Орегоне [2, 3]. *Phytophthora cinnamomi* Rands может стать причиной фитофтороза около тысячи видов растений, начиная от мхов, папоротников, саговников, хвойных, трав, лилий и заканчивая представителями многих двудольных семейств, тем самым разрушая естественные экосистемы [2, 4]. *Phytophthora cactorum* (Lib. et Coch.) Schroet кроме семечковых пород (яблоня, груша) способен поражать косточковые (вишня и другие) и землянику. Инфекция сохраняется в почве в виде толстостенных

ооспор, устойчивых к неблагоприятным условиям среды [1, 2].

Большинство корневых гнилей плодовых и ягодных культур вызывают почвенные микромицеты, которые трудны для диагностики в полевых условиях при проведении визуальных обследований. Несмотря на то, что существует ряд типичных симптомов, характерных для того или иного типа заболеваний, есть существенная вероятность ошибки в определении возбудителя при визуальной диагностике растения, что может привести к неверным решениям при выборе мероприятий по защите растений. Поэтому так важно и актуально проводить лабораторные исследования для постановки точного диагноза.

Цель нашей работы: сравнительный анализ классических методов исследования возбудителя фитофторозной гнили плодовых и декоративных культур.

Из открытых литературных источников были выбраны методы определения представителей рода *Phytophthora* из природных объектов почва и элементы растений. Особое внимание уделено методической составляющей, к сожалению, часто авторы приводят сокращенные варианты описательной части методик (условия, диапазон и пр.), что затрудняет их воспроизводство и верификацию.

Методы выделения грибов рода *Phytophthora*

Метод биоприманок (суспензия). Метод плавающих биоприманок основан на использовании объектов, привлекающих зооспоры из почвенно-водной суспензии. В качестве приманок используют листья любых чувствительных к фитофторозу видов растений: камелия, рододендрон, дуб и др. Для увеличения вероятности выделения представителей рода *Phytophthora* из почвы следует использовать образцы, предварительно подсушенные, или после хранения в холодильнике, это активирует прорастание покоящихся спор [1, 2].

Образцы почвы подсушивают на открытом воздухе в течение суток. Навеску воздушно-сухой почвы в размере 20 г равномерно распределяют по чашке Петри и заливают стерильной водой на высоту 0,5–1 см над уровнем почвы. После чего пинцетом удаляют все, что всплывает и оказывается на поверхности воды. В чашки Петри с почвой аккуратно раскладывают неповрежденные, предварительно промытые (10–15 минут), листья-приманки дорсальной стороной на воду в количестве 2–3 штук. Приманки инкубируют при температуре 17–22 °С при рассеянном свете в течение 3–7 суток. После некротизации 25% поверхности листа приступают к микроскопированию листовой пластины [1]. Работа была проведена на микроскопе Nikon ECLIPSE E200 при увеличении $\times 10$ и $\times 40$. В качестве приманок мы использовали листья вегетирующих растений: разные виды рододендронов (*Rhododendron camtschaticum* Pall., *Rh. catawbiense* Michx., *Rh. hirsutum* L., *Rh. ledebourii* Pojark., *Rh. luteum* (L.) Sweet., *Rh. macrophyllum* D. Don ex G. Don, *Rh. maximum* L., *Rh. occidentale* (Torr. & A. Gray) A. Gray), отобранные в Московской и Ленинградской области; а также листья и цветы земляники садовой (*Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier) сорта Вима Рина (Московская область).

Метод биоприманок (кусочки, фрагменты). Выделение представителей рода *Phytophthora* проводят на кусочках генеративных органов, неустойчивых к фитофторозу видов (сортов) растений [1]. В нашей работе мы модифицировали метод выделения фитофторы из тканей растений, применив его для выделения фитофторы

из почвы. Выделение патогена проводили на ломтиках клубня картофеля, плодах яблони домашней сорта Антоновка, зеленых ягодах земляники садовой. Ниже приведено описание на примере плодов яблони (аналогично проводят на клубнях картофеля, ягодах земляники).

Берут здоровые, неповрежденные яблоки и тщательно моют под водопроводной водой, дезинфицируют спиртом и очищают от кожуры стерильным скальпелем. После этого стерильным скальпелем яблоки нарезают на ломтики толщиной 0,5–1 см, которые раскладывают в стерильные чашки Петри так, чтобы они не соприкасались. Внутреннюю часть чашки Петри предварительно выстилают стерильной фильтровальной бумагой, смоченной стерильной водой. Почвенный образец разводят до консистенции почвенной пасты дистиллированной водой и наносят на ломтик яблока стеклянной палочкой, после чего закрывают сверху вторым ломтиком. Чашки Петри инкубируют в термощкафу при комнатной температуре, осмотр ломтиков проводят на 3, 5 и 7 суток. При появлении белого налета приступают к микроскопированию — сначала верхний ломтик яблока просматривают по краю при увеличении $\times 10$ в оптическом микроскопе, затем готовят препарат «раздавленная капля» и смотрят при увеличении $\times 40$.

Посев на питательные среды. Выделять представителей рода *Phytophthora* из почвы можно на разные среды. Чаше всего используют селективную среду, основанную на соке из 8 овощей (V8) и овсяный агар (на 1 л — 60 г овсяных хлопьев, 10 г глюкозы, 20 г агара, до заданного объема смесь доводят дистиллированной водой). Для подавления активности прочих грибов и бактерий в среду добавляют антибиотики (стрептомицин, ампициллин и т. д.) и фунгициды (нистатин, пентахлорнитробензол — PCNB, краситель розовый бенгальский — RB) [2].

При приготовлении среды V8 сначала в сок добавляют карбонат кальция для снижения кислотности, тщательно перемешивают в течение 15 минут. Затем смесь 20 минут центрифугируют при скорости вращения 5000 об./мин. Дают отстояться 10 минут, удаляют осадок и супернатант доводят до 1 л дистиллированной водой с добавлением агара. Автоклавирование проводят в течение 20 мин при 120 °С. Необходимый компонент овощной среды — сок 8 овощей (V8) является коммерческой смесью, которую может быть не всегда легко или удобно приобрести. В этом случае среда V8 может быть заменена на томатный агар без потери качества проводимого анализа. Томат режут на кусочки и измельчают в блендере, полученную массу протирают сквозь сито с диаметром ячеек 1–2 мм, чтобы избавиться от крупных кусков и семечек. Затем томатный сок кипятят до 100 °С и смешивают с карбонатом кальция, чтобы не образовалось осадка и агрегатов при его добавлении [5]. Рецепт данной питательной среды следующий: 20% сока, 0,04% CaCO_3 и 2% агара. При выделении фитофторы применяют также морковный агар, в котором к экстракту моркови (400 мл) добавляют агар (22 г) и доводят до 1 л дистиллированной водой, экстракт моркови готовят, отваривая кусочки моркови в воде в соотношении 2:5 порядка 30 минут. Для выделения активного мицелия фитопатогенов применяют посев на картофельно-глюкозный агар (КГА): 200 г картофеля, 20 г глюкозы и 20 г агара на 1 л дистиллированной воды, картофель предварительно отваривают в 500 мл воды и полученный экстракт уже используют для приготовления среды [2].

Метод почвенных комочков. Почвенные комочки (свежего субстрата) диаметром 0,2–0,3 см раскладывают на расстоянии 2–3 см в количестве 10 шт. в чашки

Петри на застывшую питательную среду — томатный агар, морковный агар и картофельно-глюкозный агар (КГА). Повторность — трехкратная. Затем чашки инкубируют в термостате при температуре 22 °С, учет посева проводят на 3, 5 и 7 сутки [6]. Мы изучали выделение возбудителей фитофтороза с использованием разных питательных сред (табл. 1).

Метод флотации. Данный метод относится к методам прямых учетов спор грибов с помощью микроскопирования. Он основан на использовании различных градиентов плотности для отделения сравнительно крупных спор от частиц почвы. Образцы почвы высушивают без воздействия высоких температур. Потом почву просеивают через сито с диаметром отверстий 2 мм, готовят 10-граммовую навеску, добавляют 40 мл дистиллированной воды и 10 мл вазелинового масла, тщательно перемешивают (на качалке на 15 мин) и центрифугируют на 3 тыс. об./мин. Затем из верхней жидкости (масло) пипеткой отбирают пробы и раскапывают на 5 чистых предметных стеклах (на 1 стекло наносят по 10 капель). Эти капли просматривают под оптическим микроскопом при увеличении $\times 40$, отмечая наличие/отсутствие конидий рода *Phytophthora*. Конидии идентифицируют по форме и размеру, подсчитывают и оценивают степень заселенности почвы в количестве конидий на 1 г воздушно-сухой почвы.

Метод влажной камеры в сочетании с посевом на среду КГА. Метод влажной камеры основан на том, что фитопатоген, находящийся в тканях растения при соответствующей влажности и температуре может прорасти наружу и образовать органы спороношения, по которым его будет возможно идентифицировать. На дно и крышку стерильной чашки Петри помещают стерильные фильтровальные диски, смоченные водой, после чего кладут стерильные стекла в качестве подложки под закладываемый объект. Сам образец тщательно промывают под проточной водой, а затем поверхностно стерилизуют спиртом и, разделив его на части, подходящие под размер чашки Петри, помещают во «влажную камеру». После этого чашки ставят в термостат при температуре 22 °С [7].

Выделение представителей рода *Phytophthora* из тканей растения проводят со слабо зараженных участков. Скальпелем, пропущенным через пламя спиртовки, вырезают небольшой кусочек (3–4 мм) на границе внешне здоровой и пораженной ткани и переносят на твердую питательную среду КГА по 10 шт. на чашку ($\varnothing$ 0,5 см; расстояние 2 см) в трехкратной повторности для каждого варианта. Затем чашки инкубируют в термостате при температуре 22 °С, учет посева проводят на 3, 5 и 7 сутки.

В рамках фитопатологического обследования плодовых и декоративных насаждений Московской, Калужской и Владимирской области были отобраны почвенные и растительные образцы (корни) согласно принятым методам ГОСТ 21507–2013 Защита растений, ГОСТ 174402–84. В образцах разными микробиологическими методами (изложены выше) провели диагностику на наличие возбудителя фитофторозной гнили. Повторность — 3-х кратная. Видовую принадлежность

Таблица 1.

Состав питательных сред, для выделения грибов рода *Phytophthora*, протестированных в эксперименте

Компонент среды	Питательная среда, количество в г(мл)			
	V8	Томатная	Морковная	КГА
Овощной сок (из 8 овощей или V8)	250	-	-	-
Карбонат кальция	5	0,4	-	-
Агар	15	20	20	20
Глюкоза	-	-	-	20
Томатный сок	-	200	-	-
Отвар моркови	-	-	400	-
Отвар картофеля	-	-	-	400
Стрептомицин	-	+	+	+
RV	-	+	+	+
Стерильная дистиллированная вода	до 1 л	до 1 л	до 1 л	до 1 л

микромикетов устанавливали на основании культурально-морфологических признаков по современным определителям для соответствующих таксономических групп. Терминология приведена в соответствии с Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>). Математический анализ результатов провели с применением программных возможностей MS Excell. Рассчитывали среднее значение (X), частоту встречаемости вида (ЧВ в %), равной доле повторностей, в которых выделены представители данного вида, от общего количества повторностей в образце (n=30).

Обсуждение результатов

В полевых обследованиях плодовых и ягодных культур в качестве визуальных признаков поражения яблони фитофторозом выделяли следующие: засыхание коры по всей окружности ствола выше корневой шейки, пожелтение листьев или всего дерева, засыхание недозревших плодов. При выделении данного фитопатогена из природных объектов (почва, растение) необходимо знать, что численность популяции оомицетов рода *Phytophthora* в почве может варьировать в зависимости от времени года и погодных условий. Поэтому при отборе образцов на микологический анализ необходимо обращать внимание на этот момент — сезонность [1]. Например, для центральной нечерноземной зоны, в частности для территории Москвы и Московской области благоприятным временем отбора образцов являются середина весны (апрель — начало мая) и начало осени (конец августа — сентябрь). В эти периоды температура в среднем составляет порядка 15–17 °С и в почве достаточно влаги для активации спор фитопатогена. В нашем исследовании отбор был произведен в сентябре из шести точек (смешанные образцы с шести участков плодовых насаждений (яблоня)).

Известно, что почва не является стерильным субстратом. Поэтому с участков, где были визуально диагностированы пораженные растения была отобрана почва и корни растений (точка В, Г, Д, Е), а также с контроля (визуально здоровые растения — точка А, Б). Методом флотации в образцах почвы определили количество конидий фитофторы на 1 г воздушно-сухой почвы и сравнили с экономическим порогом вредоносности для окультуренной почвы (рис. 1). В результате споры фитофторы были идентифицированы только из части

Рис. 1. Анализ заселенности почвы *Phytophthora sp.* (метод флотации)

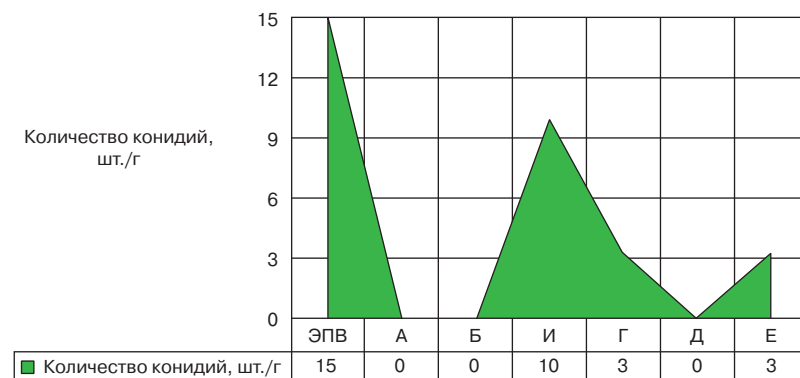


Рис. 2. Анализ заселенности почвы *Phytophthora sp.* (метод посева на питательные среды)

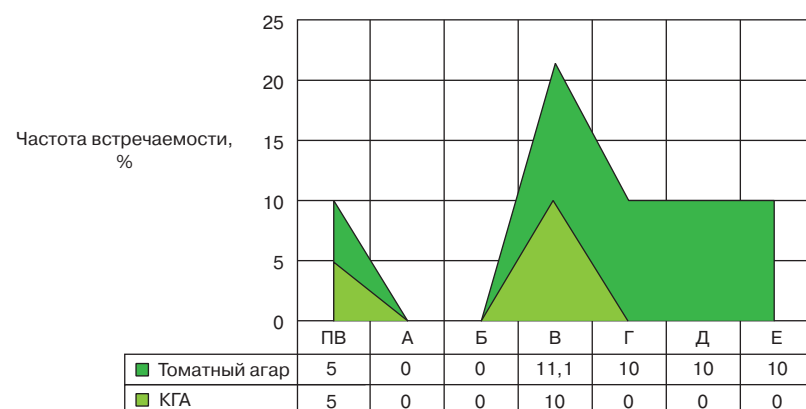
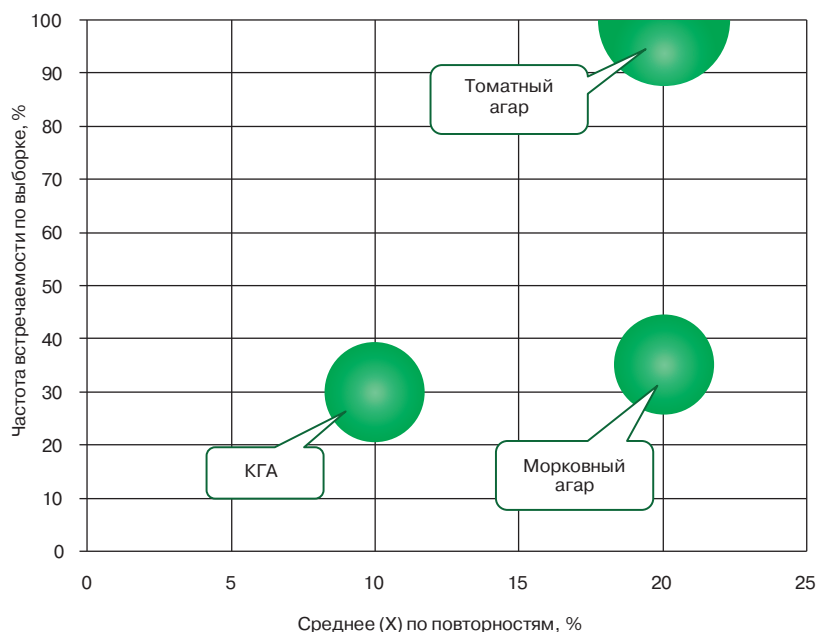


Рис. 3. Анализ заселенности почвы *Phytophthora sp.* (метод посева на питательные среды)



образцов — точка В, Г, Е, где количественный показатель колебался от 3 до 10 конидий на 1 г воздушно-сухой почвы, что было ниже ЭПВ патогена (15 конидий/г воздушно-сухой почвы)¹.

Затем применили метод посева на питательные среды изучаемых образцов почвы (рис. 2). В контрольных образцах из точки А, Б (визуально здоровые растения) не выделена фитопфтора, а во всех прочих наблюдали различия по степени заселенности псевдогрибом *Phytophthora sp.* Максимальная частота встречаемости отмечена в точке В и равна 11%, где ранее методом флотации было определено максимальное содержание конидий фитопфторы — 10 шт./г воздушно-сухой почвы. Отметим, что метод посева на специализированные среды позволил определить фитопфтору в образце из точки Д, в отличие от метода флотации. Данные по определению фитопфторы в почве и частях растения (корни, подвой) методом посева на питательные среды были сопоставимы с результатами для почвенных образцов, работа в этом направлении продолжается.

Затем для корней растения из точки В, где была установлена максимальная заселенность оомицетом *Phytophthora sp.*, сделали сравнительный анализ нескольких питательных сред для проверки качества выделения возбудителя фитопфтороза: томатный агар, морковный агар, КГА (рис. 3). Лучший результат получен с применением томатного агара в качестве специализированной питательной среды, где определена наибольшая частота встречаемости равная 100%.

Отметим, что также хорошо себя показал метод приманок выделение фитопфторы из почвенной пасты между ломтиками яблока. Учеты проводили на 5-е сутки опыта, после инкубирования при умеренной температуре (17...20°C), в условиях естественного освещения. Данные опыта были сопоставимы с результатами по методу флотации.

Полученные результаты инструментальных методов помогли определить дальнейшие действия и выбор мероприятий по системе защиты растений. В точках А, Б можно продолжить визуальную диагностику. В точках В, Г, Д, Е плотность популяций псевдогрибов *Phytophthora*

¹ ЭПВ (экономический порог вредоносности) — плотность популяции вредного организма, вызывающая такую степень заболеваемости растений, при которой применение защитных мероприятий экономически оправдано (рентабельно). ПВ (порог вредоносности) — минимальная плотность популяции вредного организма или развития заболевания растений, которые вызывают статистически достоверное снижение урожайности.

срр. в случае оптимальных для их роста условий окружающей среды может повлиять на снижение урожайности или биологическую продуктивность растений. Но применение защитных мероприятий для уничтожения популяций данного оомицета в почве экономически не оправдано (не рентабельно).

Заключение

Микологические исследования с информацией о возбудителях болезней растений особенно актуальны и важны в фитомониторинговых обследованиях для своевременного принятия оптимальных управленческих решений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Головин С.Е. Корневые и прикорневые гнили садовых растений: распространенность, вредоносность, диагностика: монография /Под научной редакцией академика РАН И.М. Куликова. — М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2016. — 440 с.
2. Сурина Т.А. Фитофторозные корневые гнили древесных и кустарниковых растений и их диагностика, Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. — М.: МГУ. — 2015. — 163 с.
3. Rizzo D.M. Phytophthora ramorum: integrative research and management of an emerging pathogen in California and Oregon forests / Rizzo DM, Garbelotto M, Hansen EM. // Annual Review of Phytopathology. 2005. № 43. P. 309. DOI: 10.1146/annurev.phyto.42.040803.140418
4. Hardham A.R. Phytophthora cinnamomi // Molecular plant pathology. 2005. №6(6). P. 589–604. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2005.00308.x
5. Guo L.Y., Ko W. H. Two Widely Accessible Media for Growth and Reproduction of Phytophthora and Pythium Species // Applied and environmental microbiology. 1993. № 59(7). P. 2323–2325.
6. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. — М.: Изд-во МГУ. 1991. — 304 с.
7. Фёдоров Н.И., Ярмович В.А. Лесная фитопатология. Лабораторный практикум. -Минск.: Изд. БГТУ. 2005. — 488 с.

ОБ АВТОРАХ:

Бондарева Е.В., младший научный сотрудник Отдела патологии декоративных и садовых культур ФГБНУ ВНИИФ, аспирант факультета Почвоведения МГУ
Калембет И.Н., младший научный сотрудник Отдела патологии декоративных и садовых культур ФГБНУ ВНИИФ

Изучен набор диагностических методик по выделению представителей рода *Phytophthora*. Считаем, что метод биоприманок имеет определенное преимущество перед методом посева, заключающееся в возможности проанализировать больший объем почвы, так как при посеве на твердую питательную среду на чашку Петри можно поместить только небольшое количество почвы. Предлагаем для решения фитопатологических задач в рутинных обследованиях насаждений плодовых и ягодных культур использовать комплексный подход: метод флотации и/или приманок, приманок с ломтиками яблока и посева на специализированные питательные среды (томатный или морковный агар).

REFERENCES

1. Golovin S.E. Kornevye i prikornevye gnili sadovykh rastenij: rasprostranennost', vredonosnost', diagnostika: monografija. [Root and root rot of garden plants: prevalence, harmfulness, diagnostics: monograph], Pod nauchnoj redakciej akademika RAN I.M. Kulikova, Moscow, FGBNU VSTISP, 2016. P.440 (In Russian)
2. Surina T.A. Fitofthoroznye kornevye gnili drevesnyh i kustarnikovyh rastenij i ih diagnostika, Dissertacija na soiskanie uchenoj stepeni kandidata biologicheskikh nauk. [Late blight root rot of trees and shrubs and their diagnosis. Cand. bio. sci. diss. abstr.] Moscow, MGU, 2015. 163 p. (In Russian)
3. Rizzo D.M, Garbelotto M, Hansen E.M. Phytophthora ramorum: integrative research and management of an emerging pathogen in California and Oregon forests., Annual Review of Phytopathology, 2005. № 43. P. 309–335. DOI: 10.1146/annurev.phyto.42.040803.140418
4. Hardham A.R. Phytophthora cinnamomi, Molecular plant pathology., 2005, vol. 6 no 6, pp. 589–604. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2005.00308.x
5. Guo L.Y., Ko W. H. Two Widely Accessible Media for Growth and Reproduction of Phytophthora and Pythium Species, Applied and environmental microbiology, 1993. Vol. 59. no 7. P. 2323–2325.
6. Zvjagincev D.G. Metody pochvennoj mikrobiologii i biohimii. [Methods of soil microbiology and biochemistry.] Moscow, MGU, 1991. 304 p. (In Russian).
7. Fjodorov N.I., Jarmovich V.A. Lesnaja fitopatologija. Laboratornyj praktikum. [Forest Phytopathology. Laboratory workshop.], Minsk, BGTU, 2005. 488 p. (In Russian).

ABOUT THE AUTHORS:

Bondareva E.V., Junior Researcher, Department of Pathology of Ornamental and Horticultural Cultures, VNIIF, Postgraduate Student, Department of Soil Science, Moscow State University
Kalembet I.N., Junior Researcher, Department of Pathology of Ornamental And Horticultural Cultures, VNIIF