

Міністерство освіти і науки України

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Кафедра Мікології та фітоімунології

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор

« ____ » _____ 2016 __ р.

Робоча програма навчальної дисципліни

МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МІКОЛОГІЇ

(назва навчальної дисципліни)

спеціальність (напрямок) _____ 6.040102-Біологія _____

спеціалізація _____

факультет _____ Біологічний _____

2016 / 2017 навчальний рік

Програму рекомендовано до затвердження вченою радою факультету (інституту, центру)

“ 29 ” _____ серпня _____ 2016 року, протокол № 8

РОЗРОБНИКИ ПРОГРАМИ: викладач Неділько Ольга Павлівна

Програму схвалено на засіданні кафедри мікології та фітоїмунології

Протокол від “ 29 ” _____ серпня _____ 2016 року № 1

В.о.завідувача кафедри мікології та фітоїмунології

_____ Шкорбатов Ю.Г.
(підпис) (прізвище та ініціали)

Програму погоджено методичною комісією

назва факультету, для здобувачів вищої освіти якого викладається навчальна дисципліна

Протокол від “ 29 ” серпня 2016 року № 1

Голова методичної комісії біологічного факультету

_____ Догадіна Т.В.
(підпис) (прізвище та ініціали)

ВСТУП

Програма навчальної дисципліни “ Методи експериментальної мікології” складена відповідно до освітньо-професійної (освітньо-наукової) програми підготовки

рівня перший (бакалаврський)

(назва рівня вищої освіти, освітньо-кваліфікаційного рівня)

спеціальності (напряму) _____ 6.040102-Біологія _____

спеціалізації _____

1. Опис навчальної дисципліни

- 1.1. Метою викладання навчальної дисципліни **Методи експериментальної мікології** є здобуття студентами базових знань та навичок в експериментальній роботі з грибними об'єктами.
- 1.2. Основними завданнями вивчення дисципліни є ознайомити студентів з основними принципами експериментальної роботи в мікології, сформувати цілісне уявлення про різноманіття методів, що використовуються під час мікологічних досліджень. Сформувати практичні навички виділення грибів різних екологічних груп у чисту культуру та навички подальшої роботи з нею, вміти аналізувати отримані результати.
- 1.3. Кількість кредитів 5
- 1.4. Загальна кількість годин 180

1.5. Характеристика навчальної дисципліни	
За вибором	
Денна форма навчання	Заочна форма навчання
Рік підготовки	
4-й	4-й
Семестр	
1-й	1-й
Лекції	
-	-
Практичні, семінарські заняття	
-	-
Лабораторні заняття	
96 год.	42 год.
Самостійна робота	
84 год.	138 год.
Індивідуальні завдання	
36 год.	53 год.

1.6. Заплановані результати навчання: при подальшому навчанні і професійній діяльності бути здатними знаходити та осмислювати нову інформацію з експериментальної мікології в контексті набутих знань про основні морфологічні, онтогенетичні та фізіолого-біохімічні особливості грибів в культурі та наявний досвід практичного використання.

2. Тематичний план навчальної дисципліни

Розділ 1. Загальна частина

Тема 1. Місце та роль експериментальної мікології у системі наук про гриби.

Дефініція експерименту і спостереження як один з методів наукового пізнання. Роль експериментальних досліджень у становленні мікології. Експериментальна мікологія у зв'язку з фізіологією, біохімією та генетикою грибів, мікробіологією та біотехнологією.

Тема 2. Основні методи культивування грибів у лабораторних умовах

Посуд, інструменти, устаткування. Підготовка їх для виділення грибів і пересівання культур. Культивування грибів на природних середовищах та субстратах за допомогою вологих камер та їх модифікацій (кілець Ван Тігема, ексікаторів). Культивування грибів на твердих живильних середовищах у чашках Петрі. Культивування у рідких живильних середовищах. Метод „висячої краплі” та його різновиди.

Розділ 2. Методи стерилізації, що використовуються у мікології

Тема 1. Методи термічної стерилізації

Історія методів термічної стерилізації. Пастеризація та тиндалізація. Стерилізація текучою парою. Стерилізація парою під тиском та зі зниженим тиском. Сухоповітряна стерилізація. Лабораторне обладнання для термічної стерилізації. Техніка безпеки під час застосування методів термічної стерилізації.

Тема 2. Методи хімічної стерилізації

Застосування методів хімічної стерилізації. Основні біоцидні речовини, що використовуються для хімічної стерилізації в мікології (спирти, формальдегід, оксид етилену, розчини сулеми тощо). Застереження щодо застосування методів хімічної стерилізації. Техніка безпеки під час застосування методів хімічної стерилізації.

Тема 3. Методи променевої стерилізації

Різновиди методів променевої стерилізації. Стерилізація за допомогою ультрафіолетового опромінення: механізм дії, застосування та застереження. Пригнічення репарацій мікроорганізмів. Техніка безпеки під час застосування методів променевої стерилізації.

Тема 4. Методи стерилізації фільтруванням

Стерилізація за допомогою фільтрування. Азбестові та скляні фільтри. Випадки, коли використовуються методи стерилізації фільтруванням. Техніка безпеки під час застосування методів стерилізації фільтруванням.

Розділ 3. Живильні середовища для культивування грибів

Тема 1. Класифікації живильних середовищ

Різновиди живильних середовищ відповідно до їхнього складу, агрегатного стану, призначення. Синтетичні, напівсинтетичні та природні середовища. Тверді, напіврідкі та рідкі середовища. Поняття про селективні, накопичувальні, колекційні живильні середовища.

Тема 2. Складники живильних середовищ

Основні елементи, що мають бути присутні у живильних середовищах. Найпоширеніші джерела вуглецю та азоту, що використовуються під час приготування живильних середовищ. Різноманіття гідролізатів (пептонів), їх застосування. Агар, його склад, фізико-хімічні властивості та отримання. Замінники агару (желатина, силікагель, карбоксиметилцелюлоза). Джерела мінеральних елементів. Високомолекулярні добавки до живильних середовищ (фактори росту, антибіотики). „Голодні” живильні середовища, їх застосування.

Тема 3. Приготування живильних середовищ

Основні вимоги до процесу приготування живильних середовищ. Послідовність внесення складників. Контроль рН середовища та зміни кислотності, що стаються під час термічної стерилізації. Розлив агаризованих живильних середовищ у лабораторний посуд. Фільтрування та освітлення середовищ. Техніка безпеки під час приготування живильних середовищ.

Розділ 4. Виділення грибів у чисту культуру

Тема 1. Основні принципи виділення грибів із природних субстратів

Правило „чистого зразку”. Способи боротьби із мікробіологічним забрудненням та небажаними контамінантами. Підготовка інструментарію для взяття зразків грибів для подальшого виділення їх в культуру.

Тема 2. Виділення грибів з плодових тіл та спор грибів

Отримання моноспорових ізолятів грибів (методом «сухої голки», метод ізоляції в рідких середовищах, ізоляція з розподілом спор на поверхні середовища). Методи виділення, засновані на уловлюванні відстріляних спор. Виділення міцелію та спор з плодових тіл грибів. Специфічні методики виділення окремих екологічних груп грибів.

Тема 3. Виділення грибів з ґрунту

Взяття зразку ґрунту для наступного виділення грибів. Висів комочків ґрунту на агаризовані живильні середовища. Застосування методу розведень та висіву ґрунтової суспензії на агаризовані середовища. Інші методи виділення грибів з ґрунту (на рослинні залишки, на скельця обростання Холодного, на паперові диски, на предметні скельця-пастки Ля-Туш, метод прямих відбитків).

Тема 4. Виділення грибів з рослинного матеріалу

Правила взяття зразку рослинного матеріалу для виділення грибів-контамінтів. Виділення грибів з насіннин, плодів, коренів, стебел, листків. Методи корневих змивів, агарових дисків, приманок.

Розділ 5. Ріст грибів в культурі

Тема 1. Теоретичні уявлення про ріст міцеліальних грибів

Ріст і розвиток грибів як біологічний процес. Первинний та вторинний метаболізм у грибів. Особливості накопичення різних продуктів метаболізму при культивуванні.

Тема 2. Фази росту грибів в культурі

Основні фази росту грибів у культурі. Проростання спор, логарифмічна фаза, фаза експоненційного росту, стаціонарна фаза та старіння колонії. Метаболічні та морфологічні зміни, що відбуваються в колонії на різних фазах її розвитку. Підтримка культур у життєздатному стані. Міжнародні Банки культур.

Тема 3. Характеристики росту грибів в культурі та їх вимірювання

Основні показники росту грибів в культурі. Швидкість лінійного росту колонії на поверхні агаризованого живильного середовища та методи її вимірювання. Ростовий коефіцієнт. Накопичення біомаси у рідких живильних середовищах та методи її вимірювання. Безперервне культивування грибів.

Тема 4. Характеристики колоній грибів, що культивуються на агаризованих середовищах

Макроознаки: консистенція, будова крайової зони, текстура, колір, запах, реверзум колонії. Мікроскопічні ознаки: структури статевого та нестатевого розмноження, хламідоспори.

Розділ 6. Біохімічні властивості грибів

Тема 1. Вивчення токсинуотворюючих грибів

Визначення фітотоксичної активності грибів (біопроба на насінні, проростках, листових і стеблевих тканинах проростків, на зрізаних черешках і пагонах рослин).

Тема 2. Вивчення антибіотичних властивостей грибів

Виділення грибів-антагоністів з ґрунту. Вивчення антибіотичних властивостей грибів-антагоністів.

Розділ 7. Створення інфекційного фону та способи зараження рослин

Тема 1. Інокуляція рослин патогеном

Загальні умови створення інфекційного фону. Отримання спорового матеріалу для інфікування. Зараження через ґрунт, насіння, плоди, коренеплоди та листя.

Розділ 8. Аналіз результатів мікологічного експерименту

Тема 1. Планування та протоколювання мікологічного експерименту

Поняття про „повторності” та „варіанти” досліду. Правила ведення лабораторного журналу. Маркування лабораторного посуду, культур. Шифрування даних.

Тема 2. Методи аналізування результатів мікологічного експерименту

Визначення середніх значень. Порівняння різних варіантів досліду. Визначення достовірності відмінностей між варіантами.

3. Структура навчальної дисципліни

Назви розділів і тем	Кількість годин							
	денне відділення				заочне відділення			
	усього	л.	лаб	с/р	усього	л.	лаб	с/р
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Розділ 1. Теоретичні засади експериментальної мікології								
Тема 1.	2			2	6			6
Тема 2.	4		2	2	10		2	8
Разом за розділом	6		2	4	16		2	14
Розділ 2. Методи стерилізації, що використовуються у мікології								
Тема 1.	3		1	2	5		1	4
Тема 2.	3		1	2	5		1	4
Тема 3.	2			2	4			4
Тема 4.	2			2	4			4
Разом за розділом	10		2	8	18		2	16
Розділ 3. Живильні середовища для культивування грибів								
Тема 1.	5			5	8			8
Тема 2.	5			5	8			8
Тема 3.	8		6	2	10		4	6
Разом за розділом	18		6	12	26		4	22
Розділ 4. Виділення грибів у чисту культуру								
Тема 1.	4			4	4			4
Тема 2.	14		10	4	10		4	6
Тема 3.	16		10	6	14		4	10
Тема 4.	20		12	8	14		4	10
Разом за розділом	54		32	22	42		12	30
Розділ 5. Ріст грибів в культурі								
Тема 1.	3			3	4			4
Тема 2.	3			3	4			4
Тема 3.	24		20	4	14		8	6
Тема 4.	12		8	4	8		2	6
Разом за розділом	42		28	14	30		10	20
Розділ 6. Біохімічні властивості грибів								
Тема 1.	8		6	2	8		2	6
Тема 2.	18		12	6	14		4	10
Разом за розділом	26		18	8	22		6	16
Розділ 7. Створення інфекційного фону та способи зараження рослин								
Тема 1.	14		4	10	20		4	16
Разом за розділом	14		4	10	20		4	16
Розділ 8. Аналіз результатів мікологічного експерименту								
Тема 1.	5		2	3	3		1	2
Тема 2.	5		2	3	3		1	2
Разом за розділом	10		4	6	6		2	4
Усього годин	180		96	84	180		42	138

4. Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість Годин	
		денне	Заочне
1	Інструктаж з техніки безпеки. Організація робочого місця. Підготовка посуду, інструментів для взяття зразків грибів для подальшого виділення їх в культуру.	2	2
2	Стерилізація посуду, інструментів. Приготування вологих камер та їх модифікацій.	2	2
3	Готування агаризованих живильних середовищ, їх розлив та стерилізація.	6	4
4	Виділення грибів з насінин, плодів, овочів, коренів, стебел, листків.	12	4
5	Виділення чистої культури з плодових тіл та спор грибів. Отримання моноспорових ізолятів.	4	1
6	Виділення водних грибів методом «приманки» та культивування на агаризованих середовищах	4	1
7	Виділення грибів із ґрунту методом ґрунтових розведень. Інші методи виділення грибів з ґрунту.	10	4
8	Культивування грибів на агаризованих живильних середовищах. Визначення основних показників росту грибів в культурі.	10	4
9	Кульурально-морфологічний опис колоній грибів.	4	1
10	Мікроскопічне вивчення грибів.	4	1
11	Культивування грибів на рідких живильних середовищах.	6	2
12	Визначення росту грибів по сухій вазі міцелію.	4	2
13	Визначення фітотоксичної активності грибів.	6	2
14	Виділення грибів-антагоністів із ґрунту.	6	2
15	Визначення антибіотичних властивостей грибів.	6	2
16	Методи інокуляції рослин грибами.	4	4
17	Аналіз результатів мікологічного експерименту.	4	2
18	Експерсія до лабораторії «Випробування харчової продукції» науково-виробничого центру стандартизації, метрології та сертифікації (м. Харків)	2	2
	Разом	96	42

Семінарські та практичні заняття програмою не передбачаються.

5. Завдання для самостійної роботи

№ з/п	Види, зміст самостійної роботи	Кількість Годин	
		денна форма	заочна форма
1	Опрацювання навчального матеріалу. Складання опорного конспекту.	10	36
2	Підготовка до лабораторних занять	29	34
3	Виконання індивідуального навчально-дослідного завдання	36	53
4	Підготовка до контрольної роботи	3	6

5	Підготовка до підсумкового контролю	6	9
	Разом	84	138

6. Індивідуальні завдання

Індивідуальні навчально-дослідні завдання виконуються у формі самостійної постановки експерименту.

Предметом досліджень студентів є гриби, що викликають хвороби рослин, і тому представляють собою великий практичний інтерес. Згідно з планом роботи, студенти повинні самостійно спланувати і провести експеримент, обробити і проаналізувати отримані дані.

Самостійній постановці експерименту передують теоретичне і практичне пояснення матеріалу викладачем.

Кожен студент вирішує однакову задачу на прикладі різних видів грибів, що дозволяє в кінці експерименту узагальнити отримані дані для цілого ряду фітопатогенів, що розрізняються конкретними властивостями.

Поставлені завдання передбачають поглиблене самостійне вивчення студентами наукової літератури, організацію робочого місця, правильне планування робочого часу. Це зобов'язує студентів, відповідно до їх конкретного експерименту, здійснювати спостереження і контроль дослідження за конкретним графіком, який може не збігатися з розкладом навчальних занять спецпрактикуму. Протягом експерименту роль викладача зводиться до консультації студентів з виникаючих у ході дослідження питань.

Контроль за роботою студентів здійснюється у формі перевірки і обговорення оформлених звітів про проведені дослідження. Звіти складаються у вигляді таблиць, графіків, діаграм та аналізу отриманих результатів. Підсумкове заняття присвячується публічному виступу кожного студента-дослідника за матеріалами звіту про виконану роботу.

Публічна презентація матеріалу зобов'язує студента самостійно продумати наочності, необхідні для повного сприйняття інформації слухачами.

Подібна організація роботи на спецпрактикумі є гарною базою для подальших самостійних наукових досліджень студентів.

План експерименту:

1. Опрацювати базову літературу з теми, скласти опорний конспект.
2. Підготувати лабораторний посуд для постановки експерименту.
3. На основі отриманих знань, виготовити живильні середовища, необхідні для виконання практичних завдань.
4. Користуючись здобутими знаннями та навичками, самостійно виділити чисту культуру гриба із наданих зразків.
5. Визначити основні показники росту виділених культур.
6. Провести макроскопічний та мікроскопічний опис колоній.
7. Користуючись визначниками та отриманими під час виконання індивідуального завдання даними, встановити видову належність виділених грибів.
8. Проаналізувати отримані в ході виконання завдань дані та скласти звіт.

7. Методи контролю

Самоконтроль здійснюється під час розв'язання завдань з використанням рекомендованої літератури та ресурсів мережі Інтернет.

Поточний контроль. Програма передбачає наступні форми поточного контролю:

- усне опитування, яке здійснюється перед та під час лабораторних робіт з метою контролю засвоєння теоретичних положень, необхідних для виконання практичних завдань;
- наприкінці заняття здійснюється контроль за веденням студентами лабораторного журналу, що показує успішність виконання поставлених завдань та документування отриманих результатів;
- теоретична контрольна робота: передбачає письмову відповідь на поставлене теоретичне питання (додаток 1).

Підсумковий контроль. Підсумковий контроль проводиться у вигляді:

- звіту про виконання навчально-дослідного завдання;
- тестових завдань (додаток 2).

8. Схема нарахування балів

Приклад для підсумкового семестрового контролю в формі заліку без виконання залікової роботи

Поточний контроль, самостійна робота, індивідуальні завдання										Сума
розділ 1	розділ 2	розділ 3	розділ 4	розділ 5	розділ 6	розділ 7	розділ 8	Контрольна робота, передбачена навчальним планом	Індив. завдан.	
2	2	2	16	15	9	2	2	10	40	100

Шкала оцінювання

Сума балів за всі види навчальної діяльності протягом семестру	Оцінка	
	для екзамену	для заліку
90 – 100	відмінно	Зараховано
70-89	добре	
50-69	задовільно	
1-49	незадовільно	не зараховано

9. Рекомендована література

Основна література

1. Литвинов М.А. Методы изучения почвенных микроскопических грибов. – Изд-во «Наука», 1969.- 124 с.
2. Леонтьев Д.В., Акулов О.Ю. Загальна мікологія: підручник для студентів вищих навчальних закладів. – Харків: Основа, 2007. – 225 с.
3. Методы экспериментальной микологии / под ред. В.И. Билай. – К.: Наукова думка, 1982. – 550 с.
4. Методическое руководство к лабораторным занятиям по спецкурсу “Методы чистых культур”.- Харьков, 1981.- 40с.
5. Семенов С.М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов. – М.: Агропромиздат, 1990. – 240 с.
6. Plant pathology: Techniques and protocols / Ed. by Burns R. – Edinburg: Humana press, 2009. – 321 p.

Допоміжна література

1. Беккер З.Э. Физиология и биохимия грибов. Москва: Издательство Московского университета, 1988 – с. 230.
2. Берестецкий О.О. Простий метод виявлення фітотоксичних речовин, утворюваних мікроорганізмами //Мікробіол. журнал, 1972. – Т. 34. - № 6. – с. 798-799.
3. Билай В.И. Микроскопические грибы – продуценты антибиотиков. – Киев. Наук. Думка, 1965. – 267 с.
4. Бухало А.С. Культивирование съедобных и лекарственных грибов. – Киев, 2004. – 128с.
5. Визначник грибів України// під ред. Д.К.Зерова. – К.: Наукова думка. - Т.I-IV, 1968-1973.
6. Горбик Л.Т. Метод визначення інтенсивності конідієутворення у грибів роду *Fusarium* Lk. Ex Fr. //Мікробіол. журнал, 1976. – Т. 38. - № 2. – с. 239-240.
7. Дудка І.О. Водні гіфоміцети України. - К. Наукова думка, 1974. - 240 с.
8. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках (6-е изд.). – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 528 с.
9. Калинець-Мамчур З.І. Словник-довідник з альгології та мікології. – Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2011. – 400с.
10. Кирай З. и др. Методы фитопатологии. - М.: Колос, 1974. – 182 с.
11. Кириленко Т.С. Новий метод виділення спор грибів для одержання чистих культур//Мікробіол. журнал, 1977. – Т. 39. - № 2. – с. 233-235.

12. Коваль Е.З., Сиверс В.С., Редчиц Т.І. Новий спосіб підготовки конідій грибів. які не змочуються водою, для точного їх підрахунку //Мікробіол. журнал, 1970. – Т. 32. - № 1. – с. 126-128.
13. Культивирование микроорганизмов / под ред. Работновой И.Л., Позмоговой И.Н. – М.: ВИНТИ, 1990. – 122 с.
14. Новожилов Ю.К. Класс Миксомицеты. - СПб.:Наука, 1993. - 288 с.
15. Пидопличко Н.М., Милько А.А. Атлас мукопорових грибів. - К. Наукова думка, 1971. - 188 с.
16. Практикум по микробиології: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений/ А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др.; под ред А.И. Нетрусова. М: Академия, 2005. - 608 с.
17. Пыстина К.А. Порядки Сапролегниевые, Лептомитовые, Лагенидиевые. - СПб.: Наука, 1994. - 186 с.
18. Хохряков М.К. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов. – Л.: Всесоюз. Ин-т защиты растений, 1969. – 68 с.
19. Rawlins T.E. Phytopathological and botanical research methods. – New York: Ditzion press, 2007. – 164 p.
20. The fungal colony / Ed. by Gow N.A., Robson G.D., Gadd G.M. – Cambridge: Cambridge University press, 2008. – 332 p.
21. Wheeler B.P., Wilson L.J. Practical forensic microscopy. – London: John Wiley and sons Ltd, 2008. – 365 p. + ill.

10. Посилання на інформаційні ресурси в Інтернеті, відео-лекції, інше методичне забезпечення

- сайт кафедри мікології та фітоімунології: <http://www-mycology.univer.kharkov.ua/>
- сайт Центрального бюро грибних культур: <http://www.cbs.knaw.nl/>
- сайт електронної бібліотеки AVAX: <http://www.avaxhome.ws/>

Питання для самопідготовки і самоконтролю

1. Місце та роль експериментальної мікології у системі наук про гриби.
2. Основні правила роботи в лабораторії. Техніка безпеки. Правила ведення лабораторного журналу.
3. Особливості стерилізації різних об'єктів, вибір режиму стерилізації.
4. Методи термічної стерилізації.
5. Методи хімічної стерилізації.

6. Методи променевої стерилізації.
7. Методи стерилізації фільтруванням.
8. Сухоповітряна стерилізація. Режими роботи сушильних шаф. Запобіжні заходи.
9. Автоклавування. Знайомство з принципом роботи автоклава. Основні режими автоклавування. Автоклавування поживних середовищ різного складу. Підготовка матеріалу до автоклавування.
10. Загортання обладнання для стерилізації. Підготовка чашок Петрі, скляних піпеток та шпателів до стерилізації.
11. Забезпечення стерильності робочого місця при роботі. Робота біля полум'я. Робота з газовим пальником та спиртівкою. Техніка безпеки при роботі з вогнем.
12. Техніка безпеки при роботі з УФ-лампами.
13. Поняття про первинну, практично чисту та абсолютно чисту культуру.
14. Розрізнення понять «ізолят» та «штам».
15. Зберігання культур. Банки культур та їх роль у поступі мікологічних досліджень.
16. Принципи культивування грибів на природних середовищах та субстратах за допомогою вологих камер та їх модифікацій.
17. Принципи культивування грибів на твердих живильних середовищах.
18. Класифікація живильних середовищ відповідно до їх складу, агрегатного стану. Призначення.
19. Основні елементи, що мають бути присутні у живильних середовищах. Найпоширеніші джерела вуглецю та азоту, що використовуються під час приготування живильних середовищ.
20. Агар, його склад, фізико-хімічні властивості та отримання.
21. Замінники агару (желатина, сілікагель, карбоксиметилцелюлоза).
22. Основні вимоги до процесу приготування живильних середовищ. Контроль рН середовища, зміни кислотності що стаються під час термічної стерилізації.
23. Які середовища є простими або загальноживаними і для чого їх застосовують?
24. Які середовища називають складними, що є їх основою?
25. Які середовища дозволяють отримати переважне зростання одних культур при одночасному пригніченні інших?
26. Приготування поживних середовищ різного складу. Сусло-агар, вівсяний агар. Картопляний агар, картопляно-глюкозний агар, середовище Чапека. Робота з вагами.
27. Підготовка колб із середовищем до стерилізації в автоклаві. Підготовка пробірок до стерилізації в автоклаві. Приготування пробірок зі скошеним агаром.

28. Стерильний розлив живильного середовища по чашкам Петрі. Додавання антибіотиків в поживні середовища.
29. Розлив середовища в скляні і пластикові чашки Петрі. Специфіка роботи з пластиковим одноразовим посудом.
30. Методи посіву культури грибів. Посів фрагментом міцелію, посів агаровим блоком, посів уколом в центр чашки, посів трьома уколами, посів штрихом. Техніка посіву на чашки Петрі знизу. Пересів культури з чашки на чашку, з чашки в пробірку, з пробірки в пробірку та з пробірки в чашку Петрі.
31. Основні принципи виділення грибів із субстратів.
32. Виділення грибів з ґрунту. Основні методи та підходи.
33. Виділення грибів з рослинного матеріалу. Основні методи та підходи.
34. Виділення грибів з плодових тіл та спор грибів. Основні методи та підходи.
35. Виділення міксоміцетів з природного субстрату методом інкубації у вологих камерах. Спостереження, облік і визначення видів.
36. Виділення грибів-копротрофів методом інкубації у вологих камерах.
37. Методи виділення грибів-збудників псування харчових продуктів.
38. Виділення водно-повітряних гіфоміцетів методом інкубації листового опаду у воді, облік і визначення основних груп. Виділення водних грибів методом приманок.
39. Очищення культури методом послідовних пересівань.
40. Аналіз зараженості насіння. Особливості роботи з насінням різних культур. Період інкубації насіння у вологих камерах. Визначення зараженості партії насіння.
41. Методи виділення грибів з поверхні насіння. Поверхнева стерилізація насіння, виділення внутрішньої інфекції. Порівняння методів поверхневої стерилізації.
42. Вивчення ґрунтових мікроміцетів. Ґрунтовий посів методом серійних розведень. Облік числа КУО на г ґрунту. Порівняння зразків ґрунту за кількістю і складом мікроміцетів.
43. Визначення концентрації спорової суспензії за допомогою камери Горяєва.
44. Виділення моноспорових культур методом серійних розведень, вибір розведення для посіву спорової суспензії на агаризоване середовище.
45. Визначення заспorenності приміщень. Порівняння різних приміщень за кількістю і складом виділених грибів.
46. Фази росту грибів в культурі.
47. Основні показники росту грибів в чистій культурі.
48. Опис колоній виділених грибів, що культивуються на агаризованих середовищах.

49. Ведення колекції грибів. Відсів культур на пробірки зі скошеним агаром для тривалого зберігання.
50. Методи визначення фітотоксичної активності грибів.
51. Методи визначення антибіотичних властивостей грибів.
52. Загальні умови створення інфекційного фону.
53. Способи зараження рослин грибами в лабораторних та польових умовах.
54. Методи аналізування результатів мікологічного експерименту.

Додаток 1

Питання теоретичної контрольної роботи

1. Анаморфний гриб *Geomyces destructans* розвивається у шкірних покривах кажанів під час зимового сну (гібернації) у печерах та штольнях (температура не сягає вище за +10°C), та спричиняє летальне захворювання “синдром білого носу”. Що треба врахувати під час виділення та культивування цього гриба в лабораторних умовах?

2. Під час спроби виділення у чисту культуру базидієвого ксилотрофного гриба *Excidia glandulosa* з'ясувалося, що на живильних середовищах PDA (картопляно-декстрозний агар) та СМА (кукурудзяний агар) міцелій цього гриба росте вкрай повільно, однак, у культурі активно розвиваються інші мікроорганізми (бактерії та, зрідка, анаморфні гриби). Яким чином можна модифікувати живильне середовище, щоб збільшити шанси *Excidia glandulosa* бути виділеним у чисту культуру?

3. Під час спроби виділення грибів з глибинних шарів деревини дуба на живильне середовище Чапека в культурі активно виділялися анаморфні гриби з роду *Trichoderma*. Водночас, гриби з родів *Pleurotus* та *Crepidotus*, чії базидіоми були присутні на досліджуваному стовбурі, не виділилися. Яким чином можна було б досягти виділення грибів з родів *Pleurotus* та *Crepidotus*?

4. Дослідник поставив собі завдання: визначити, який з двох грибів ефективніше використовує наявні в середовищі живильні речовини. Для цього культури були висіяні (у кількох повтореннях) на поверхню агаризованого живильного середовища Чапека та культивувалися в однакових умовах. За тиждень культури було оглянуто та з'ясовано, що культура А формувала тонкий шар міцелію, що заріс всю поверхню чашки Петрі, в той час як культура В утворила високу “подушку”, що займала третину чашки. Які висновки може зробити дослідник? Яким чином можна переробити дослід, щоб отримати аргументовану відповідь на поставлене питання?

Додаток 2

Тестові питання для підсумкового контролю

1) Яку бактеріальну голку Ви використовуєте для наступних дій:

- | | |
|--------------|--|
| А) петелькою | 1) для пересіву міцелію, погано відокремлюваного від живильного середовища |
| В) лопаткою | 2) посів уколком в живильне середовище |
| С) пряма | 3) пересівання повітряного міцелію гриба |

- D) вигнута
- 4) для захоплення грибною плівкою
- 5) для перенесення суспензії спор з одного рідкого середовища в інше
- 6) для роздавлювання твердих об'єктів культури гриба

2) Розподіліть методи стерилізації за групами:

- | | |
|-----------------------------------|-------------------------|
| A) Пастеризація | 1) Фізичні |
| B) Спиртове протруювання | 2) Хімічні |
| C) Тиндалізація | 3) Радіаційно-променеві |
| D) Ультрафіолетове випромінювання | |
| E) Автоклавування | |
| F) Фільтрування | |
| G) Фламбування | |
| H) Озонування | |

3) Визначте можливі наслідки стерилізації паром під тиском:

- | | |
|------------------------------|-------------------------------------|
| A) Дисоціація солей | C) Зменшення кількості води |
| B) Зниження кислотності (рН) | D) Розпад високомолекулярних сполук |
| E) Карамелізація цукрів | F) Зниження щільності агару |
| G) Випадання осадку | H) Підвищення рН |

4) Чому стерилізацію УФ-випромінюванням проводять з затемненням?

- A) Для пригнічення процесів синтезу клітинної стінки
- B) Для стимулювання розпаду фосфоліпідів клітинних мембран
- C) Для пригнічення процесів репарації
- D) Для стимулювання автолітичних процесів

5) Співвіднесіть назви способів стерилізації до їх властивостей

- | | |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| A) Тиндалізація | 1) Одноразовий вплив температури |
| B) Стерилізація сухим жаром | 2) Вплив температури кілька разів |
| C) Пастеризація | 3) Температура до 70 °C |
| D) Стерилізація текучою паром | 4) Температури від 80 до 100 °C |
| E) Автоклавування | 5) Температура більше 100 °C |

6) Поверхневу стерилізацію зерна здійснюють:

- | | |
|-----------------------|--|
| A) 96% спиртом | D) 2% розчином марганцевокислого калію |
| B) 3% перекисом водню | E) хромової сумішшю |
| C) 70% спиртом | F) 10% соляною кислотою |

7) Вкажіть спосіб стерилізації наступних речовин:

- A) Рідка середовище Чапека –
- B) Шматочки картоплі –
- C) Кров –
- D) Молоко –
- E) Грунт –
- F) Вазелін –
- G) Вітаміни –

8) Які Вам відомі методи визначення рН середовища?

- | | |
|----------------------|--------------------|
| 1) Потенціометричний | 3) Колориметричний |
| 2) Хроматографічний | 4) Ізотопний |

9) Продовжте речення:

- A) Бактеріальні фільтри застосовують...
 B) Бактеріальні фільтри виготовляють з...

10) Вкажіть класифікацію поживних середовищ:

- A) по консистенції –
 B) за складом –
 C) за призначенням –

11) Якими не можуть бути поживні середовища?

- | | |
|--------------------|-----------------------------------|
| A) Рідкі | 1) Агаризованими |
| B) Щільні | 2) Синтетичними |
| C) Природні | 3) Для глибинного культивування |
| D) Напівсинтетичні | 4) Для поверхневого культивування |
| | 5) Точно відомого складу |
| | 6) Селективними |

12) Класифікуйте живильне середовище Чапека:

- | | |
|---------------|--------------------|
| A) Рідке | D) Напівсинтетичне |
| B) Напіврідке | F) Природне |
| C) Щільне | G) Синтетичне |

13) Якими способами можна зробити живильне середовище селективним?**14) Для освітлення поживних середовищ використовують:**

- | | |
|---------------------------|------------------------|
| A) Карбоксиметилцеллюлозу | D) білок курячого яйця |
| B) тваринне вугілля | E) сульфат алюмінію |
| C) білу глину | F) антибіотики |

15) З яких природних джерел отримують агар-агар?

- | | |
|------------------------|----------------------|
| A) Бурі водорості | D) Червоні водорості |
| B) Дріжджі | E) Зелені водорості |
| C) Діатомові водорості | F) Агарикові гриби |

16) Вкажіть недоліки желатини в якості згущувача поживних середовищ?

17) Ферменти яких груп використовують для отримання пептона?

- | | |
|--------------------|--------------|
| A) Оксидоредуктази | D) Ізомерази |
| B) Трансферази | E) Лігази |
| C) Гідролази | |

18) З яких природних субстратів отримують пептон?

- | | |
|---------------------|---------------------|
| A) Риби | G) Дріжджів |
| B) Деревини | H) Цвілевих грибів |
| C) Нафтопродуктів | I) М'ясних відходів |
| D) Цукрових буряків | J) Ячмінного солоду |
| F) Картоплі | K) Молока |

19) Дайте відповідь на питання:

A) Що таке пивне сусло?

B) Для культивування яких груп грибів використовують неохмелене пивне сусло?

20) Дайте визначення:

Чиста культура гриба – це...

21) Дайте визначення:

Штам –це..

22) Джерелами вуглецю для грибів у чистих культурах можуть бути...

23) Джерелами азоту для грибів у чистих культурах можуть бути...

24) В якому вигляді гриби засвоюють водень (H)?

A) Неорганічна (мінеральна) форма

B) Органічні сполуки

25) Вкажіть правильний порядок фаз росту грибів у культурі:

A) Експоненціальна фаза

D) Фаза старіння

B) Логарифмічна фаза

E) Фаза стаціонарна

C) Фаза проростання

26) У період яких фаз росту гриба в культурі домінують процеси первинного метаболізму?

A) Експоненціальна фаза

D) Фаза старіння

B) Логарифмічна фаза

E) Фаза стаціонарна

C) Фаза проростання

27) Співвіднесіть групи грибів за їх відношенням до температури:

A) Психрофіли

1) Здатні розвиватися при середніх температурах (20-35 °C)

B) Термофіли

2) Здатні розвиватися при температурі не вище 10 °C

C) Мезофіли

3) Можуть виживати при високих температурах (більш 45 °C)

28) Перерахуйте способи визначення показників росту грибів в чистій культурі

(при необхідності наведіть формули).

29) Вкажіть, які ознаки Ви будете враховувати при описі морфолого-культуральних особливостей колоній *Penicillium chrysogenum* на середовищі Чапека.

30) Зазначте, що з переліченого Вам знадобиться для приготування різновидів методу «вологої камери»:

A) кільце Ван-Тігема

G) чашка Петрі

B) колба Бюнзена

H) флакон Ру

C) ексикатор

J) предметне скло з лункою

D) камера Горяєва

K) фільтрувальний папір

F) покривне скло

L) вазелін

31) У Вас є 50 мл вихідної водної суспензії спор *Septoria tritici*. При підрахунку спор у розведенні 10^3 на верхній сітці камери Горяєва у великих квадратах виявлено наступна їх кількість: 6, 12, 5, 7, 8, 9, 2, 13, 9, 10, 11, 3, 4, 0,6; на нижній– 2, 13, 4, 7, 15, 9, 0, 2, 5, 14, 11, 9, 13, 9, 10.

A) Визначте титр досліджуваної водної суспензії спор гриба.

B) Для штучного зараження листя пшениці Вам необхідний инокулюм цього гриба з титром водної суспензії 1×10^6 спор/мл. Враховуючи титр вихідної водної суспензії (результат А), якими будуть Ваші подальші дії?

32) У Вас є уражене насіння сої. Які методи Ви використовуєте для виділення насінневої інфекції?

33) Вам необхідно визначити з допомогою мікроскопа розмір конідій *Fusarium oxysporum*. Які вимірювальні прилади Вам знадобляться?

- A) окулярний мікрометр
 B) сітка Предтеченського
 C) камера Тома
- D) камера Горяєва
 F) об'єктивний мікрометр

34) Для виділення мікобіоти водойм Ви використовуєте

- A) метод «сухої голки»
 B) метод «спорових відбитків»
 C) метод обростання предметних скелець
- D) метод «принад»
 F) скельця-пастки Ля-Туш
 G) занурені у водойму рослинні залишки

35) Визначте переваги методу «посіву ґрунтової суспензії на агар»:

- A) Можливість виділити більше видів
 B) Легкість поділу культур
 C) Можливість кількісного обліку грибів
 D) Можливість отримати чисті культури грибів

36) Вам необхідно визначити кількість дріжджів та пліснявих грибів в 1 г ґрунтового зразка. Який з наступних методів Ви використовуєте для виконання цієї роботи:

- A) метод прямого посіву ґрунту
 B) метод розведення ґрунтової суспензії
 C) метод «прямих відбитків»
- D) метод «обростання скелець Холодного»
 F) предметні скельця-пастки Ля-Туш
 G) метод контактних скелець»

37) Опишіть спосіб виділення Вами в культуру монокаріонов базидіального гриба *Coprinus comatus* .

38) Наявність яких, з перерахованих мікроморфологічних ознак, вкажуть на успішне виділення Вами культури базидіального гриба *Coprinus comatus*:

- A) анастомози
 B) ширина гіф 1,5-5 мкм
 C) ловчі кільця
 D) ширина гіф >7,5 мкм
- F) столони
 G) ризоїди
 H) цистиди
 J) пряжки

39) Який спосіб зараження пшениці *Puccinia graminis* Ви використовуєте для створення інфекційного фону

- A) інокулювання квітів
 B) зараження через судинну систему
 C) зараження насіння
- D) зараження листя
 F) зараження через ґрунт

40) Дайте визначення:

- A) Фітотоксини – це...
- B) Перерахуйте методи визначення фітотоксичності культур мікроскопічних грибів.