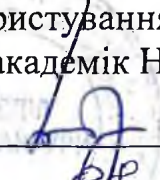


НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

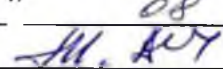
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології
Кафедра фітопатології ім. акад. В.Ф. Пересипкіна

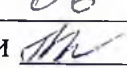
ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор Національного
університету біоресурсів і
природокористування України
професор, академік НААН

 - I.I. Ібатуллін
26 08 2016 р.

РОЗГЛЯНУТО І СХВАЛЕНО:

Вченою радою факультету захисту
рослин, біотехнологій та екології
протокол № 1
від "25" 08 2016 р.
Декан  Доля М.М.

На засіданні кафедри фітопатології
ім. акад. В.Ф. Пересипкіна
протокол № 19
від "20" 06 2016 р.
в.о. зав. кафедри  Крючкова Л.О.

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБ РОСЛИН

ГАЛУЗЬ ЗНАНЬ 0901 СІЛЬСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО І ЛІСІВНИЦТВО
СПЕЦІАЛЬНІСТЬ 202 ЗАХИСТ І КАРАНТИН РОСЛИН
РІВЕНЬ ВИЩОЇ ОСВІТИ ТРЕТІЙ (ОСВІТНЬО – НАУКОВИЙ) РІВЕНЬ

Факультет: Захисту рослин, біотехнологій та екології

Розробники: д.б.н. Крючкова Л.О., Гентош Д.Т.

Київ – 2016 р.

1. Опис навчальної дисципліни**МОЛЕКУЛЯРНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБ РОСЛИН**

Галузь знань, спеціальність, освітній ступінь		
Галузь знань	0901 Сільське господарство і лісівництво	
Освітньо-науковий рівень	Третій	
Освітній ступінь	доктор філософії	
Спеціальність	202 Захист і карантин рослин	
Освітньо-наукова програма	Захист і карантин рослин	
Характеристика навчальної дисципліни		
Вид	вибіркова	
Загальна кількість годин	150	
Кількість кредитів ECTS	5	
Кількість змістових модулів	не передбачено	
Курсовий проект (робота)	не передбачено	
Форма контролю	екзамен	
Показник навчальної дисципліни для денної та заочної форми навчання		
	денна форма навчання	заочна форма навчання
Рік підготовки (курс)	1	1
Семестр	2	2
Лекційні заняття	20	20
Практичні, семінарські заняття	30	30
Лабораторні заняття		
Самостійна робота	100	100
Індивідуальні завдання		
Кількість тижневих аудиторних годин для денної форми навчання	4	4

(назва)

1. Мета та завдання навчальної дисципліни

Основна мета навчальної дисципліни – оволодіння сучасними методами досліджень у фітопатології, вміти користуватися біохімічними та молекулярно-генетичними методами досліджень. Отримані знання – це основа більш ефективного, науково-обґрунтованого екологічно безпечного захисту сільськогосподарських культур від інфекційних захворювань.

У результаті вивчення навчальної дисципліни аспірант повинен:

знати:

- методи ідентифікації збудників хвороб рослин як за культурально-морфологічними ознаками, так і за допомогою сучасних технологій, що передбачає дослідження геному та метаболітів;
- загальну характеристику збудників хвороб рослин: грибів, вірусів, віроїдів, бактерій, мікоплазм, нематод; їх співвідношення в загальному патогенному комплексі культурних рослин; їх відмінності за розміром та способами ідентифікації;
- мікроскопічні методи ідентифікації грибів, нематод, бактерій, вірусів;
- методи світлової, люмінесцентної і флуорисцентної мікроскопії, використання радіоактивних та флуорисцентних міток у мікроскопії біологічних об'єктів;
- методи електронної мікроскопії при ідентифікації вірусів; використання імунферментного аналізу та імунно-електронної мікроскопії;
- методи біохімічних досліджень бактерій;
- метод гелі-електрофорезу: ідентифікація віроїдів методом гелі-електрофорезу та інші приклади використання гелі-електрофорезу: розділення фрагментів ДНК, електрофоретичне розділення продуктів ПЛР-аналізу;
- хроматографічні методи дослідження: тонкошарову, газову та рідинну хроматографію, методи виявлення мікотоксинів у зерні. метод ВЕРХ (високоефективна рідинна хроматографія);
- методи спектроскопії та спектрофотометрії, принцип роботи мас-спектрометра, використання мас-спектрометрії та методу ВЕРХ-МС при дослідженні біологічних об'єктів;
- молекулярні методи ідентифікації видів, використання ДНК-зондів для ідентифікації вірусів і віроїдів, ПЛР-аналіз, секвенування;
- методи аналізу структури і експресії генів, біосенсорний метод діагностики хвороб, ідентифікації видів та забруднення рослинної продукції мікотоксинами;

вміти:

- за симптоматикою хвороби правильно визначати тип збудника;
- правильно визначати методологію ідентифікації видової належності фітопатогена в залежності від типу захворювання;
- проводити видову ідентифікацію збудників хвороб рослин з використанням сучасних мікроскопічних, біохімічних, молекулярно-генетичних методів досліджень;
- користуватися методами світлової мікроскопії для ідентифікації збудників грибних хвороб рослин; використовувати мітки в світловій та конфокальній мікроскопії;
- визначати патогенні властивості збудників, їх расовий склад.

2. Програма навчальної дисципліни

Тема лекційного заняття 1. Загальна характеристика збудників хвороб рослин. Гриби, віруси, віроїди, бактерії, нематоди. Їх частка в загальному патогенному комплексі культурних рослин. Відмінності за розміром та способами ідентифікації. Прокаріоти і еукаріоти. Будова гена у прокаріотів і еукаріотів. Вірусні геноми.

Тема лекційного заняття 2. Мікроскопічні методи ідентифікації грибів, нематод, бактерій, вірусів. Світлова мікроскопія. Люмінесцентна і флуорисцентна мікроскопія. Використання радіоактивних та флуорисцентних міток. Флуорофори. Флуорисцентні білки. Конфокальний мікроскоп.

Тема лекційного заняття 3. Електронна мікроскопія. Ідентифікація вірусів. Імунно-ферментний аналіз. Імунно-електронна мікроскопія.

Тема лекційного заняття 4. Метаболітні профілі. Біохімічні дослідження бактерій. **Метод гелі-електрофорезу.** Ідентифікація віроїдів методом гелі-електрофорезу. Інші приклади використання гелі-електрофорезу: розділення фрагментів ДНК, електрофоретичне розділення продуктів ПЛР-аналізу. Електрофорез в денатуруючих умовах.

Тема лекційного заняття 5. Хроматографічні методи дослідження. Тонкошарова хроматографія. Виявлення мікотоксинів у зерні. Газова та рідинна хроматографія. Високоєфективна рідинна хроматографія.

Тема лекційного заняття 6. Спектроскопія, спектрофотометрія. Мас-спектрометрія. Принцип роботи мас-спектрометра. Використання мас-спектрометрії. Рідинна хроматографія – мас-спектрометрія. Інші приклади використання хроматографії: визначення білків.

Тема лекційного заняття 7. Молекулярні методи ідентифікації видів.. Хімічна будова ДНК. Напрямок полінуклеотидного ланцюга. Принцип

комплементарності. Шлях передачі інформації в живих клітинах. Організація геномів. Гени РНК і білкові гени. Явище гібридизації ДНК.

Тема лекційного заняття 8. Використання ДНК-зондів для ідентифікації вірусів і віроїдів. Клонування ДНК. Геномні бібліотеки. ПЛР-аналіз.

Тема лекційного заняття 9. Секвенування. Секвенування за Максамом і Гілбертом. Секвенування за Сенджером. Секвенування нового покоління. Секвенування за допомогою синтезу. Піросеквенування. Біоінформатика.

Тема лекційного заняття 10. Аналіз структури і експресії генів. Блот-гібридизація. Фінгерпринтинг

3. Структура навчальної дисципліни

Назва теми	Кількість годин											
	денна форма						заочна форма					
	усього	у тому числі					усього	у тому числі				
		л	п	лаб	інд	с.р.		л	п	лаб	інд	с.р.
Тема 1. Загальна характеристика збудників хвороб рослин.	10	2	-			10	10	2	-			10
Тема 2. Мікроскопічні методи ідентифікації грибів, нематод, бактерій, вірусів.	15	2	4			10	15	2	4			10
Тема 3. Електронна мікроскопія.	15	2	4			10	15	2	4			10
Тема 4. Метаболітні профілі.	15	2	3			10	15	2	3			10
Тема 5. Хроматографічні методи дослідження.	15	2	4			10	15	2	4			10
Тема 6. Спектроскопія, спектрофотометрія.	15	2	3			10	15	2	3			10
Тема 7. Молекулярні методи ідентифікації видів.	20	2	3			10	20	2	3			10
Тема 8. Використання ДНК-зондів для ідентифікації вірусів і віроїдів.	15	2	3			10	15	2	3			10
Тема 9. Секвенування.	15	2	3			10	15	2	3			10
Тема 10. Аналіз структури і експресії генів.	15	2	3			10	15	2	3			10
<i>Усього годин</i>	150	20	30			100	150	20	30			100

4. Теми практичних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
1	Морфологічні ознаки грибів – збудників хвороб рослин	3
2	Морфологія фітопатогенних бактерій (<i>Erwinia</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Agrobacterium</i>)	3
3	Морфологія рослинних вірусів	3
4	Гель-електрофорез	3
5	Флуорисценція в біології. Хроматографія. Спектрофотометрія.	3
6	Хімічна будова нуклеотидів	3
7	Реплікація ДНК. Гібридизація, ампліфікація.	3
8	Полімеразно-ланцюгова реакція	3
9	Фінгерпринтинг	3
10	Секвенування ДНК	3
	Всього	30

5. Методи навчання

Під час вивчення дисципліни використовуються нормативні документи, наочне обладнання, комп'ютерні програми з відповідним програмним забезпеченням, наочні стенди, каталоги нормативних документів, Закони України тощо.

6. Форми контролю

1. Усний і письмовий поточний контроль знань.
2. Формою самостійної роботи здобувача є вивчення спеціальної літератури та виконання індивідуальних завдань.
3. Залік.

7. Методичне забезпечення

Науково-методичне забезпечення навчального процесу передбачає: державні стандарти, навчальні плани, підручники і навчальні посібники; інструктивно-методичні матеріали лабораторних занять; індивідуальні навчально-дослідні завдання; контрольні роботи; текстові та електронні варіанти тестів для поточного і підсумкового контролю, методичні матеріали для організації самостійної роботи здобувачів.

8. Рекомендована література

1. Барковский В.Ф., Горелик С.М., Городенцева Т.Б. Физико-химические методы анализа. М.: Высшая школа, 1972. 344 с.

2. Браун А.Д., М.Д. Фаддева. Молекулярные основы жизни. М.:Просвещение. 1976. 207 с.
3. Выделение и идентификация бактерий. Методические рекомендации / Сост. О.И. Винникова, А.М. Самойлов, Ю.В. Попова. Харьков: ХНУ им. В.Н. Каразина, 2011. 60 с.
4. Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С.Ф. Общая и молекулярная фитопатология: Учеб.пособие. Москва, изд. Общество фитопатологов. 2001. 302 с.
5. Методы экспериментальной микологии: Справочник / Под ред. В.Й. Билай. К.: Наук. Думка, 1982. 550 с.
6. Сиволоб А.В. Молекулярна біологія. Підручник. К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет». 2008. 384 с.
7. Agrios G. Plant pathology. 5-th ed. ELSEVIER Academic Press. 2005. 948p.
8. Deacon J.W. Fungal Biology. Blackwell Publishing. 2006. 380 p.
9. Bioinformatics and data analysis in microbiology / ed. O. Bishop. Caister Academic Press. 2014. 248p.

9. Інформаційні ресурси

1. Микология и фитопатология / http://elibrary.ru/title_about.asp?id=7898
2. Карантин і захист рослин / http://archive.nbuv.gov.ua/Portal/chem_biol/Kizr/
3. Защита и карантин растений // <http://www.z-i-k-r.ru/>
4. <http://www.agroatlas.ru/ru/>

10. Контрольні питання, комплекти тестів для визначення рівня засвоєння знань здобувачами

1. Етапи діагностики інфекційних хвороб рослин.
2. Методи діагностики хвороб рослин та ідентифікації збудників.
3. Наведіть приклади інструментальних методів, які використовуються для діагностики хвороб рослин та ідентифікації збудників.
4. Опишіть мікроскопічні методи ідентифікації мікроорганізмів-збудників хвороб рослин.
5. Які збудники хвороб рослин відносяться до мікроорганізмів? Укажіть розміри окремих груп мікроорганізмів-збудників хвороб рослин.
6. В яких одиницях вимірюють розміри мікроорганізмів?
7. Яке збільшення необхідне для візуалізації таких фітопатологічних об'єктів: спор, плодових тіл мікроміцетів, бактерій, вірусів, мікоплазм, нематод?
8. Скільки видів мікроскопічних грибів описано на даний час, скільки серед них збудників хвороб рослин?
9. Несправжні гриби, подібність і відмінність між справжніми і несправжніми грибами.

10. Класичні та сучасні методи ідентифікації грибів – збудників хвороб рослин. В чому переваги сучасних інструментальних методів в діагностиці грибних хвороб рослин?
11. Хто винайшов оптичний мікроскоп і в якому столітті?
12. Які типи оптичної мікроскопії Ви знаєте? Охарактеризуйте розвиток оптичної мікроскопії.
13. Історія відкриття вірусів.
14. Розміри вірусів, одиниці вимірювання.
15. Наведіть приклади розмірів бактерій, мікоплазм, вірусів.
16. Що таке віроїди, чим вони відрізняються від вірусів?
17. Що таке віріони?
18. Охарактеризуйте класичні і сучасні методи діагностики вірусів. Дайте їм порівняльну оцінку.
19. В яких одиницях вимірюються розміри геномів мікроорганізмів?
20. Наведіть приклади розміру геномів віруса, мікоплазми, бактерії, гриба.
21. У чому відмінності між прокаріотами та еукаріотами?
22. Який відсоток становлять кодуючі послідовності в геномі бактерії?
23. Який відсоток становлять кодуючі послідовності в геномах грибів?
24. Які мікроорганізми домінують у ґрунті за чисельністю?
25. Які мікроорганізми домінують у ґрунті за біомасою?
26. В яких одиницях вимірюється чисельність мікроорганізмів у ґрунті?
27. До групи яких мікроорганізмів за сучасною систематикою належать актиноміцети, мікоплазми, рикетсії?
28. У чому полягає унікальність актиноміцетів? Наведіть приклади актиноміцетних хвороб рослин.
29. У чому полягає унікальність мікоплазм? Симптоми мікоплазмових хвороб рослин. Методи діагностики мікоплазмових хвороб рослин.
30. Що таке роздільна здатність мікроскопу? Укажіть роздільну здатність людського ока, світлового мікроскопа, електронного мікроскопа.
31. Які групи мікроорганізмів-збудників хвороб рослин можна ідентифікувати за допомогою світлового мікроскопа?
32. Що покладено в основу ідентифікації виду мікроміцета за допомогою світлового мікроскопа?
33. Для ідентифікації яких збудників хвороб рослин використовується імуноелектронна мікроскопія?
34. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація грибів?
35. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація бактерій?
36. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація вірусів?
37. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація нематод?

38. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація мікоплазм?
39. Використання явища флуорисцентності в дослідженнях біологічних об'єктів.
40. Флуорисцентний та конфокальний мікроскоп.
41. Електронна мікроскопія. Які типи електронних мікроскопів Ви знаєте? Порівняйте їх можливості.
42. Метаболітні профілі мікроорганізмів і їх використання в ідентифікації збудників хвороб рослин.
43. Мікотоксини фітопатогенних грибів. Методи їх виявлення, ідентифікації та кількісної оцінки.
44. Для ідентифікації яких видів мікроорганізмів використовують біохімічні тести?
45. Наведіть приклади грам-позитивних і грам-негативних бактерій – збудників хвороб рослин.
46. Охарактеризуйте серологічний метод ідентифікації мікроорганізмів.
47. Метод імуноферментного аналізу і його використання в діагностиці хвороб рослин.
48. Опишіть метод гель-електрофорезу і його використання в дослідженні біологічних об'єктів.
49. Для ідентифікації яких збудників хвороб рослин використовують гель-електрофорез?
50. Завдяки чому при гель-електрофорезі відбувається розділення субстанцій?
51. Опишіть метод спектрофотометрії. Наведіть приклади його використання в дослідженнях біологічних об'єктів.
52. Опишіть метод мас-спектроскопії. Наведіть приклади його використання в дослідженнях біологічних об'єктів.
53. Опишіть метод хроматографії. Як типи хроматографії ви знаєте? Наведіть приклади використання хроматографічного методу при дослідженні біологічних об'єктів.
54. Охарактеризуйте метод ВЕРХ (високоєфективна рідинна хроматографія). Наведіть приклади його використання в дослідженнях біологічних об'єктів.
55. Охарактеризуйте метод ВЕРХ-МС. Наведіть приклади його використання в дослідженнях біологічних об'єктів.
56. Наведіть приклади використання «міток» в дослідженнях біологічних об'єктів.
57. Назвіть інструментальні методи дослідження біологічних об'єктів, в яких використовуються такі мітки: барвник, флуорофор, білок, радіоактивний С.
58. Охарактеризуйте метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР-аналіз). Яка властивість ланцюга ДНК лежить в основі даної реакції?
59. Який метод ідентифікації віроїдів можна вважати передвісником методу ПЛР?
60. Історія винаходу ПЛР-аналізу.

61. Які основні етапи ПЛР-аналізу?
62. Обладнання, необхідне для ПЛР-аналізу. Термоциклери.
63. Що таке праймери?
64. Опишіть роль ДНК-полімерази в методі ПЛР.
65. Структура ДНК. Нуклеотиди, нуклеозиди, нуклеозидтрифосфати, дезоксинуклеозидтрифосфати.
66. Азотисті основи ДНК і РНК.
67. Пентози у складі нуклеїнових кислот.
68. Як відбувається синтез нуклеїнових кислот? В якому напрямку записуються нуклеотиди у ланцюгу ДНК при їх синтезі?
69. Наведіть приклади послідовностей нуклеотидів і розшифруйте їх.
70. Наведіть приклади структурних формул ділянок ДНК (РНК).
71. Що означає принцип комплементарності у нуклеїнових кислотах?
72. В сонві яких молекулярних методів біології лежить принцип комплементарності ДНК?
73. Що таке реплікація ДНК? Основний матеріал, який необхідний для реплікації ДНК.
74. Що таке ренатурація і денатурація ДНК?
75. Що таке рестрикція? Рестриктази.
76. В яких одиницях вимірюються фрагменти ДНК. Розмір праймерів.
77. Рестриктази і лігаза у ПЛР.
78. Трансформація ДНК.
79. Що таке «липкі кінці» у фрагментів ДНК (РНК)?
80. Використання методу гель-електрофрезу в ПЛР.
81. ПЛР в реальному часі.
82. Що таке «експресія генів»? Як визначається експресія генів у молекулярних дослідженнях?
83. Етапи синтезу білка: трансляція, транскрипція.
84. Біосенсорний аналіз в діагностиці хвороб та ідентифікації збудників.
85. Метод мікроареїв. Наведіть приклади використання методу мікроареїв в дослідженнях біологічних об'єктів та їх функцій.
86. Секвенування. Історія секвенування ДНК. Секвенатори.
87. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації мікроскопічних грибів-збудників хвороб рослин?
88. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації бактерій – збудників хвороб рослин?
89. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації вірусів-збудників хвороб рослин?
90. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації віроїдів-збудників хвороб рослин?
91. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації мікоплазм-збудників хвороб рослин?

92. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації нематод-збудників хвороб рослин?
93. Опишіть етапи діагностики грибної хвороб яблуні на прикладі чорного раку, та методи, які б вами використовувалися.
94. Опишіть етапи діагностики грибної хвороби пшениці на прикладі фузаріозу колоса та методи, які будуть використовуватися.
95. Опишіть етапи та методи досимптомної діагностики прикореневої гнилі пшениці на прикладі церкоспорельозу.
96. Опишіть етапи та методи діагностики вірусної хвороби рослини на прикладі ризоманії цукрового буряка.
97. Опишіть етапи та методи діагностики бактеріальної хвороби рослини на прикладі звичайної парші картоплі.
98. Опишіть етапи та методи діагностики віроїдної хвороби рослини на прикладі веретеноподібності бульб картоплі.
99. Опишіть етапи та методи діагностики нематодозу рослини на прикладі гетеродерозу цукрового буряка.
100. Опишіть етапи та методи діагностики мікоплазмової хвороби рослини на прикладі стовбура томатів.