

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б1.В.ДВ.04.02 МИКОЛОГИЯ

Направление подготовки (специальность): 06.03.01 Биология

Профиль образовательной программы: Биоэкология

Форма обучения очная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций	3
1.1 Лекция № 1 «Вводная лекция»	9
1.2 Лекция № 2 «Строение вегетативного тела грибов».....	11
1.3 Лекция №3 «Размножение грибов».....	13
1.4 Лекция №4 «Размножение грибов (половые размножение)».....	17
1.5-6 Лекция №5-6 «Генетика грибов».....	21
1.7 Лекция №7 «Физиология грибов».....	23
1.8 Лекция №8 «Вторичный метаболизм грибов».....	26
1.9 Лекция №9 «Принципы микологической систематики и номенклатуры».....	26
2. Методические материалы по выполнению лабораторных работ (не предусмотрено РУП)	
3. Методические указания по проведению практических занятий	30
3.1 Практическое занятие № ПЗ-1 «Вводное занятие»	30
3.2 Практическое занятие № ПЗ-2 «Отбор материала для микологического исследования».....	31
3.3 Практическое занятие № ПЗ-3 «Питательные среды для культивирования грибов. Приготовление сред».....	32
3.4 Практическое занятие № ПЗ-4 «Техника посева и культивирование грибов. Приготовление микроскопических препаратов».....	33
3.5 Практическое занятие № ПЗ-5 «Изучение морфологии плесневых грибов. Идентификация плесневых грибов».....	35
3.6-7 Практическое занятие № ПЗ-6-7 «Биология дрожжей».....	35
3.8 Практическое занятие № ПЗ-8 «Изучение низших грибов - возбудителей болезней растений».....	36
3.9 Практическое занятие № ПЗ-9 «Физиология грибов».....	38
3.10 Практическое занятие № ПЗ-10 «Вторичный метаболизм грибов».....	39
3.11-12 Практическое занятие № ПЗ-11-12 «Влияние факторов внешней среды на микроорганизмы».....	40
3.13 Практическое занятие № ПЗ-13 «Противогрибковые препараты. Определение лекарственной чувствительности грибов».....	41
3.14-15 Практическое занятие № ПЗ-14-15 «Выделение грибов из природных субстратов. Выделение грибов из почвы».....	43
3.16 Практическое занятие № ПЗ-16 «Выделение грибов из пищевых продуктов».....	44
3.17 Практическое занятие № ПЗ-17 «Экология грибов».....	45
4. Методические материалы по проведению семинарских занятий (не предусмотрено РУП)	

1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

1. 1 Лекция №1 (2 часа).

Тема: «Вводная лекция»

1.1.1 Вопросы лекции:

1. Предмет и задачи микологии. Микология в общей системе наук, взаимосвязь ее с фитопатологией, медициной, техникой, другими биологическими дисциплинами и т.д.
2. Общая характеристика грибов. Основные взгляды на объем и статус этой группы, и ее положение в общей системе живых организмов.
3. Краткая история развития микологии.

1.1.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса № 1

Микология (от греч. *mucos* – гриб, *logos* – учение) - наука о грибах. Цель микологии как науки - изучение морфологии, систематики, биологии, физиологии, биохимии, экологии, географии, филогении грибов, а также их роли в природе и жизни человека.

Микология тесно связана с фитопатологией (значительная часть инфекционных болезней растений вызывают фитопатогенные грибы), медициной, ветеринарией (многие грибы паразитические - возбудители заболеваний человека и животных, например дерматомикозов, микотоксикозов и др.) и промышленностью, в том числе микробиологической промышленностью (имеются грибы, используемые для получения антибиотиков - пенициллина и др., а также лимонной кислоты, витаминов, ферментов).

Наряду с наиболее освоенными процессами, где грибы применяют для сбраживания крахмалосодержащего сырья (хлебопечение, сыроварение, пивоварение, производство спирта из растительного сырья), они используются и в других отраслях хозяйственной деятельности человека. Шляпочные грибы – ценный продукт питания человека, источник белка. Появилась новая самостоятельная отрасль хозяйства – грибоводство (культивирование съедобных грибов).

Известно более 100 тыс. видов грибов, причем предполагается, что реальное число их значительно больше — 250–300 тыс. и более. В мире ежегодно описывают более тысячи новых видов. Подавляющее большинство их обитает на суще, причем встречаются они практически повсеместно, где может существовать жизнь. Подсчитано, что в лесной подстилке 78–90% биомассы всех микроорганизмов приходится на долю грибной массы (примерно 5 т/га).

Грибы – это особая группа организмов, которая занимает промежуточное положение между растениями и животными

С растениями грибы сближают: наличие хорошо выраженной клеточной стенки; неподвижность в вегетативном состоянии; размножение спорами; способность к синтезу витаминов; поглощение пищи путем всасывания (адсорбции).

Общим с животными у грибов является: гетеротрофность; наличие в составе клеточной стенки хитина, характерного для наружного скелета членистоногих; отсутствие в клетках хлоропластов и фотосинтезирующих пигментов; накопление гликогена как запасного вещества; образование и выделение продукта метаболизма — мочевины.

Эти особенности строения и жизнедеятельности грибов позволяют считать их одной из самых древних групп эукариотных организмов, не имеющих прямой эволюционной связи с растениями, как считалось ранее. Грибы и растения возникли независимо от разных форм микроорганизмов, обитавших в воде.

2. Наименование вопроса № 2

В настоящее время микология стала очень многогранной наукой и ее развитие идет по нескольким направлениям.

Пополнены сведения о распространении грибов, особенно в ранее мало исследованных в микологическом отношении географических районах и зонах. Почвенная микология располагает огромным материалом о распространении грибов в различных типах почв отдельных географических зон. Установлено, что грибы являются важным звеном в биоценозах и круговороте веществ в природе, разлагая труднодоступные для других организмов природные полимеры – клетчатку, лигнин и др. Расширяются и углубляются исследования в области водной микологии, результаты которых имеют и прикладное значение. В медицинской микологии описаны новые виды грибов, патогенные для человека и животных, изучены их биология, распространение, созданы эффективные лекарственные препараты. Исследуются аллергические, иммунобиологические свойства грибов, метаболитов, микотоксикозы.

Современная микология характеризуется развитием исследований в области цитологии, генетики, изменчивости грибов, физиологии и биохимии, тонкого строения процессов роста и регуляции образования физиологически активных веществ.

Проводятся обширные микологические исследования санитарно-гигиенического и ветеринарно-зоотехнического направлений, имеющих большое значение для здравоохранения и сельского хозяйства.

Важное направление в микологии - поиск нового сырья для микробиологической промышленности. Здесь наметилось несколько направлений. Одно из них - поиски среди грибов источников (продуцентов) новых антибиотиков, ферментов, ростовых веществ. Были найдены грибы из некоторых родов плесневых и из рода навозников, которые выделяют активный фермент целлюлазу, необходимую для переработки сырья в бумажной промышленности, годную для приготовления грубых кормов и разрушения бумажных отходов. Микробиологическим методом с помощью микроскопических грибов получают фермент пектиназу, используемую для улучшения качества фруктовых соков, и амилазу, применяемую для гидролиза крахмала. Плесневый гриб аспергиллюс нигер используется для получения лимонной кислоты. А совсем недавно арсенал грибов-продуцентов пополнила сыроежка, из которой получен фермент руссулин, нашедший широкое применение при изготовлении целого ряда различных, особенно твердых, сыров, заменив дефицитный препарат реннин, или сычужный фермент, получаемый из желудков телят. В перспективе намечается использование руссулина и как лекарственного препарата, и в этом направлении сейчас ведутся широкие исследования.

Многие грибы паразитируют на насекомых, вызывая их гибель. На этой основе создан препарат боверин, в состав которого входит микроскопический гриб боверия бассиана. Микробиологическая промышленность продолжает развиваться.

Одно из направлений микологии - изучение условий, в которых грибы-продуценты будут давать наибольшее количество активного вещества. В этих исследованиях серьезное значение приобретает также селекция продуцентов с целью получения все более активных их форм. Отселекционированные формы гриба пеницилла, например, в 100 раз активнее, чем природные.

Естественно, что ни одно из направлений современной микологии не способно успешно развиваться без точного знания самого организма гриба, его места в системе грибов, часто определяющего его свойства. Отсюда еще одно важное направление исследований - изучение самих грибов, поскольку далеко не все виды их открыты и изучены. Ежегодно учеными разных стран описываются десятки новых грибов. Постоянно совершенствуется и их система. В связи, с все возрастающей ролью грибов, в том числе актиномицетов, как продуцентов антибиотиков и др. биологически активных веществ их ролью как возбудителей заболеваний растений, животных и человека, а также в качестве микоризообразователей, исследования по микологии интенсивно ведутся в ряде стран мира. В России они проводятся в Санкт-Петербурге, Москве др., в СНГ.

Распространенность грибов. Грибы – чрезвычайно богатая видами группа представителей живых существ. К настоящему времени описаны и названы 110 - 120 тысяч их видов, однако признается, что их не меньше, чем семенных растений, т. е. 250 - 500 тысяч видов. В среднем ежегодно описывают более 1000 новых видов.

Распространение грибов зависит от особенностей их роста и спороношения, а также от факторов, выполняющих роль их пассивного переноса: воздуха (анемохория), воды (гидрохория), животных (зоохория) и человека (антропохория). В современных условиях особое значение в рассеивании грибов приобрел антропохорный способ, обусловленный массовым перемещением людей и товаров. Большинство грибов являются космополитами, реже они обнаруживаются в ограниченных, длительное время неизменных ареалах (эндемизм).

Присутствие грибов на различных объектах внешней среды может быть бессимптомным или сопровождаться различными признаками. Первыми признаками сапрофитного роста грибов могут быть изменения субстрата (например, образование спирта дрожжами, гниль древесины и т. п.); реже первым становится видимым сам грибной таллом (например, при его появлении в прозрачной воде). Грибковые инфекции растений, животных и человека в течение более или менее длительного периода времени, а в случаях «эндосимбиотического заселения» - всегда, остаются бессимптомными. (Эдо)паразитический рост гриба в зависимости от обстоятельств проявляется в виде определенных симптомов (нарушений роста, изменений окраски, увядания у растений; кожных высыпаний, лихорадки, зуда у человека; выкидышей, маститов и т. п. у животных).

Устойчивость грибов к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды весьма различна; она зависит как от вида гриба, так и от условий его существования. Грибы лучше противостоят вредным влияниям физических, химических и биологических факторов в живом организме, чем в культурах. Роговые пластинки волоса, ногтя, перьев и т. п. предохраняют грибы от вредных воздействий. В тканях больного человека возникают различные формы сохранения грибов, например, сферулы, а также развиваются тканевые изменения (клеточные гранулемы, некротические массы, скопления лейкоцитов и т. п.), препятствующие проникновению в клетки гриба вредных веществ. Чувствительность грибов к химическим агентам различна. Они достаточно устойчивы к минеральным кислотам (серной, соляной, азотной). В 5% растворах соляной и серной кислот дерматофиты погибают в течение 45 - 60 мин, в азотной кислоте еще быстрее. 1 - 2% растворы салициловой и бензойной кислоты убивают грибы через 10 - 15 мин в культуре и через 30 - 40 мин в патологическом материале (волосах, чешуйках кожи, ногтях). Растворы 60 - 70% этилового спирта приводят к гибели грибов в волосе и чешуйке через 30 - 40 мин. Выраженным фунгицидным свойством обладают 5% раствор фенола, 10% раствор формалина, 5% раствор хлорной извести, лизола, гипохлорита натрия. Фунгистатическим действием обладают соответствующие растворы уротропина, перекиси водорода, борной кислоты, тимола, нафтола, ментола, йода, протаргола. Активными фунгистатическими веществами являются спиртовые растворы (1:50000 - 1:100000) различных анилиновых красителей (фуксина, генциан- и метилвиолета, малахитового зеленого, метилового голубого).

3. Наименование вопроса № 3

Выделяют 4 периода развития науки.

Первый - от древних времен до середины 19 столетия. Изучение грибов началось еще в древности. Первое упоминание о грибах имеется у древнегреческого ученого Теофраста (3 в. до новой эры). Древние народы знали и различали довольно значительное количество грибов, преимущественно шляпочных, ядовитые и съедобные свойства которых им были хорошо известны. Тогда уже были известны шампиньоны, сморчки, трюфели.

Грибы издавна не только употребляли в пищу: они играли определенную роль в религиозной жизни людей. Народы, населявшие территории Мексики и центральной Америки, поедали шляпочные грибы, вызывающие галлюцинации, что использовалось при ритуальных обрядах. Летописи свидетельствуют, что древние скандинавы перед боем наедались мухоморов и приходили в сильное возбуждение, что позволило им без раздумий бросаться в сражение.

Занимаясь с древних времен сельским хозяйством, человек не мог не обратить внимание на болезни растений. Описания наиболее распространенных видов имеются в работах Аристотеля (4 век до н.э.), Диоскорида (1 век нашей эры), где они останавливаются на ядовитых свойствах, и находим указания на такие болезни растений как ржавчина, головня, рак деревьев.

Происхождению грибов представлялось гадательным и таинственным (массовое появление шляпочных грибов на гниющей древесине, на навозе объяснялось как образование продукта, развивающегося от разложения органических веществ), в Средние века и в начале Возрождения, под влиянием установившихся взглядов в медицине, большинство болезней рассматривалось как результат вредных испарений. Трутовики, головня, спорынья рассматривались как продукты выделения тканей питающих растений.

Средние века – эпоха мрачного безграничного насилия и нетерпимости. От средневековья о грибах до нас дошло мало сведений. В то время грибы связывали с нечистой силой. Появление плодовых тел шляпочных грибов, расположенных по кругу, на лугах и лесных полянах, называли «ведьминими кольцами» и объясняли тем, что в этих местах ведьмы водили хороводы или устраивали круговые пляски. Проделкам ведьм приписывали и то, что внутри таких колец трава часто бывает чахлой, при этом утверждали, что скот, поевший этой травы, может погибнуть.

И только в эпоху Возрождения, в учении о грибах появляются новые течения.

Первый период характеризуется описанием и попытками классификации различных грибов. Первая попытка систематизировать имеющиеся сведения о грибах, сделал натуралист К. Клузиус. Он отличает два класса грибов, которым дает описание на латинском языке.

В 1729 г. итальянский ученый Микели с использованием микроскопа сделал важнейшее открытие: обнаружил у шляпочных грибов споры и правильно истолковал их как «семена», служащие для размножения и вследствие этого должны быть причислены к растительному царству. Французский ботаник Дютрюш доказал, что шляпочные и другие грибы – это только плоды, образованные нитевидными разветвлениями, скрытыми под землей, т. е. тем, что мы сейчас называем грибницей или мицелием. До открытия Дютрюш ботаники называли грибницу «биссус» и считали одним из самостоятельных родов грибов.

В XVII в. микроскописты Гук и Мальпиги наблюдали под микроскопом ржавчинные грибы и изображали их так точно, что по их рисункам и сейчас можно без особого труда определить описанные ими виды. Однако объясняли они появление ржавчинных грибов какими-то видоизменениями самого листа. И только шведский ботаник Э. Фриз (1794-1878) впервые причислил микроскопических возбудителей болезней растений к грибам, сделав при этом оговорку, что возникают они все-таки из клеток растений, на которых появляются.

Эпоха современная Линнею богата флористическими исследованиями, выполняются рисунки, составляются описание грибов, атласы грибов.

В начале XIX в. начались более широкие исследования грибов, чему способствовало не только усовершенствование микроскопа, но и то, что грибы оказались причиной болезней многих сельскохозяйственных растений. Учеными было описано множество макро- и микроскопических грибов, но чтобы разобраться в их исключительном многообразии, необходимо было их классифицировать, как это сделал с цветковыми растениями Карл Линней.

В двухтомном «Обзоре грибов» (1801) голландского миколога Х. Персоона, кроме описаний видов приводит и вполне разработанную классификацию грибов, которая почти 30 лет была единственной полной сводкой грибов, и по которой можно было определить тот или иной вид или найти место среди близких видов, для вновь открываемых.

Описания Персоона настолько точны, что названия многих видов грибов, установленные им, сохранены и до настоящего времени. Примером таких описаний могут служить гриб-баран и плоский трутовик, растущие у оснований стволов и на пнях лиственных пород деревьев, многие виды сыроеzek, валуй и др.

Шведский ботаник Э. Фриз написал фундаментальную книгу «Система грибов», которая выходила с 1821 по 1832 г. и где было описано несколько тысяч видов грибов, в том числе и микроскопических, распределенных по отдельным группам. Работы Фриза создали фундамент для последующего развития самостоятельной науки о грибах - микологии.

В России первые микологические исследования были опубликованы в 1750 году С. П. Крашенинниковым. В 1836г. Н. А. Вейнман описал свыше 1000 видов грибов, в том числе более 100 новых.

Постепенно сведения о грибах накапливаются, и в конце 18 в. появилась наука о грибах - микология (от греч. «mykes» - гриб).

К началу второго периода - от середины и до конца 19 в. - наряду с работами по систематике грибов проводилось изучение их онтогенеза (индивидуальное развитие организма) и филогенеза (развитие биологического вида во времени).

Изучение важнейших паразитных грибов - головневых, ржавчинных, картофельного гриба фитофторы инфестанс и других видоизменилось, приняв наряду с наблюдениями экспериментальный характер, который мог дать исследователям практический выход. Это направление в микологии связано с именами французских ученых братьев Тюлянь. Они раскрыли у мучнисторосяных, ржавчинных и головневых грибов явление плеоморфизма - образования одним видом гриба различных спороношений, в связи, с чем ранее такие грибы относили к разным видам.

В 30-е годы 19 века характеризуется началом развития новых отраслей в науке (физиологии растений, выявление паразитизма в жизни грибов, обнаружение полиморфизма у грибов, отказ от теории самозарождения). Многочисленные экспериментальные исследования этих ученых позволили открыть сложные циклы развития грибов, соединив наконец в единое целое отдельные стадии развития одного и того же вида. Эти исследования паразитных грибов создали научную основу для зарождения фитопатологии - важнейшей отрасли микологии, изучающей грибные болезни растений.

Антона де Бари называют «отцом микологии». Де Барии немецкий ботаник, профессор университетов во Фрейбурге, Галле, Страсбурге. Его работы легли в основу современной микологии и фитопатологии; он выяснил гетеротрофный характер питания грибов; установил, что паразитные грибы являются возбудителями болезней у высших растений; открыл и изучил половой процесс у многих групп грибов (фимомицетов, сумчатых); исследовал цикл развития ржавчинников; предложил первую филогенетическую систему грибов. Среди его учеников русские ученые М.С. Воронин, А.С. Фаминцын, В.И. Беляев и др.

Де Бари разработал методику экспериментального изучения паразитных грибов, а его ученик О. Брефельд - методику культивирования сапротитных грибов. В России в этот период наибольшее значение имели работы М. С. Воронина (1838-1903), главным образом по паразитным грибам.

Третий период - с конца 19 в. – 40 годы 20 века. началась дифференциация микологии на различные отрасли, связанные, с одной стороны, с возросшими потребностями практической деятельности людей и, с другой - с усовершенствованием самих методов исследований, которые позволяли не только глубже изучать строение и

развитие самого организма (детали строения клетки, особенности ее роста и т. д.), но и проследить результаты деятельности этого организма: его влияние на окружающую среду, изменения, которые он в ней производит при росте и развитии.

Особое место занимает работа итальянского миколога П. А. Саккардо, который с 1882 по 1931 г. выпустил 25-томную работу, содержащую описания на латинском языке всех известных в то время видов грибов (около 80 тыс.). Эта сводка и сейчас является необходимым пособием в работе микологов.

Большую роль сыграли работы немецкого учёного Г. Клебса по онтогенезу грибов. Был широко внедрён цитологический метод (французский учёный П. Данжар, американский - Р. Гернер, немецкий - П. Клауссен, советский - Л. И. Курсанов и др.).

Развитие микологии в России связано с именем выдающегося ученого Михаила Степановича Воронина (1838-1903), которого с полным правом считают отцом русской микологии. М. С. Воронин внес серьезный вклад в изучение циклов развития ряда грибов, впервые обнаружил ловчие кольца на мицелии хищных грибов. Его исследования возбудителя кильи капусты, ржавчины подсолнечника и возбудителя белой гнили ряда овощей актуальны и в настоящее время. Учеником и продолжателем работ Воронина стал выдающийся миколог, исследователь циклов развития многих грибов академик С. Г. Навашин, который был известным микроскопистом и исследователем внутриклеточных структур грибов.

В России в начале 20 в. проблемы, поднятые М. С. Ворониным, разрабатывал миколог и фитопатолог А. А. Ячевский, В. Г. Траншель.

Особое место в развитии отечественной микологии занимает Артур Артурович Ячевский (1863-1932), который был не только крупным исследователем в области микологии и фитопатологии, но и талантливым популяризатором и организатором науки. По его инициативе в 1901 г. при Петербургском ботаническом саде была создана центральная фитопатологическая станция. Под редакцией А.А. Ячевского с 1903 года начал выходить «Ежегодник сведений о болезнях растений». А.А. Ячевский занимался изучением разнообразных болезней и опубликовал 500 работ и статей, из них следует особо отметить книгу «Ржавчина хлебных злаков России»(1907), «Бактериозы растений» и др. Фундаментальный труд А. А. Ячевского «Основы микологии», вышедший уже после его смерти, в 1933 г., не потерял своего значения и сейчас.

В.Г. Траншель предложил метод изучения разнохозяйности у ржавчинных грибов, ныне используемый во всём мире. Н. А. Наумов опубликовал результаты исследований и ряд руководств по микологии и фитопатологии. А. С. Бондарцев провёл микологические и фитопатологические исследования в различных районах России, опубликовал руководство «Грибные болезни культурных растений и меры борьбы с ними».

Л. И. Курсанов занимался в основном вопросами морфологии и цитологии грибов, главным образом ржавчинных, взаимоотношений между паразитными грибами и растением-хозяином. Автор первого фундаментального учебника по микологии и основатель кафедры низших растений Московского государственного университета.

Двадцатые годы XX в. ознаменовались бурным развитием многих отраслей знаний, в том числе и микологии. К классической микологии, занимающейся описанием и классификацией грибов, прибавилась физиология, биохимия и генетика грибов, почвенная микология, изучающая роль грибов в почвообразовательном процессе, и т. д. Величайшим событием в области микологии стало открытие в 1929 г. английским врачом-микробиологом Александром Флемингом антибиотика пенициллина - вещества, подавляющего развитие некоторых болезнетворных бактерий.

Четвертый период с 40 годов 20 в. большое значение имели исследования В. Ф. Купревича по паразитным грибам и физиологии больного растения, а также по систематике ржавчинных грибов.

Изучению грибных инфекций и интоксикаций человека и домашних животных, посвящены труды Н. М. Пидопличко и В. И. Билай.

1. 2 Лекция №2 (2 часа).

Тема: «Строение вегетативного тела грибов».

1.2.1 Вопросы лекции:

1. Мицелий и его особенности, видоизменения мицелия. Ложные ткани.
2. Споры размножения грибов.
3. Строение плодовых тел (отдел Ascomycota, отдел Basidiomycota).

1.2.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Характерные особенности грибов — наличие обычно хорошо выраженной плотной клеточной стенки, способность их вегетативного тела к неограниченному росту, неподвижность в вегетативном состоянии, размножение при помощи спор.

Грибы — талломные, или слоевищные, организмы. Их вегетативное тело состоит из тонких, не более нескольких микрон толщиной, нитевидных образований, называемых гифами, обильно разветвленная система которых формирует грибницу, или мицелий.

Мицелий пронизывает субстрат и всей своей поверхностью поглощает из него питательные вещества. У разных, часто далеких по происхождению, групп грибов мицелий выполняет одинаковые функции и морфологически мало отличается. Он может быть неклеточным, лишенным поперечных перегородок, или клеточным, разделенным поперечными перегородками (септами) на отдельные клетки. Некоторые наиболее примитивные грибы имеют одноклеточный таллом, иногда лишенный клеточной стенки. Мицелий грибов при рассматривании его невооруженным глазом или при помощи лупы имеет вид белой или окрашенной рыхлой сеточки, пушистого, иногда ватообразного налета или плёночек. У грибов-паразитов он распространяется внутри тканей пораженных организмов или на их поверхности.

Скорость роста мицелия у разных грибов различна и в значительной степени зависит от условий внешней среды. В культуре на твердых питательных средах скорость роста мицелия у многих грибов достигает 2-3 см в день (например, у мукора, триходермы), другие растут в этих условиях более медленно, образуя через 10-14 дней роста колонии диаметром всего 1-2 см. В природных условиях рост мицелия обычно более медленный, чем в культуре: у шляпочных грибов, например, составляет 10-20, реже до 30-50 см в год.

Продолжительность жизни мицелия у разных грибов также различна: у одних он недолговечен и после образования спор отмирает, а у других может существовать много лет. У трутовиков мицелий может жить в дереве в течение нескольких лет. Такие грибы часто начинают развиваться в живом дереве, а когда это дерево погибнет, продолжают расти на погибшем. Многолетний мицелий и у многих наших обычных шляпочных грибов. Его возраст может достигать 10-25 лет, хотя в некоторых местах были обнаружены грибницы возраста до 500 лет и более.

Мицелий обычно дифференцируется на две функционально различные части: субстратный, служащий для прикрепления к субстрату, поглощения и транспортировки воды и растворенных в ней веществ, и воздушный, поднимающийся над субстратом и образующий органы размножения.

В процессе приспособления к различным наземным условиям обитания у грибов возникают многочисленные видоизменения мицелия: это склероции, столоны, ризоиды, ризоморфы, аппрессории, гаустории и др. Например, с помощью столонов — воздушных лукообразных гиф — гриб быстро распространяется по субстрату. Столоны прикрепляются к субстрату ризоидами. Функцию прикрепления выполняют и аппрессории, имеющие вид плоских утолщений на ветках гиф. Гаустории, характерные для грибов-паразитов, представляют собой специальные выросты мицелия, проникающие в клетки хозяина и поглощающие из них питательные вещества. Очень интересны

структуры ловчих приспособлений хищных грибов, которые питаются совершенно необычным способом: ловят, убивают и используют в пищу микроскопически мелких животных - нематод, коловраток, простейших и др. Эти грибы в больших количествах присутствуют везде, где есть их жертвы - в почве, гниющей древесине, дернинках мхов и т. д. Жертву хищные грибы захватывают при помощи различных ловушек, чаще всего клейких сетей, состоящих из большого числа колец. Такие сети образуются в результате обильного ветвления гиф, веточки которых загибаются и соединяются (анастомозируют) с соседними веточками или родительской гифой, образуя сложную трехмерную сеть. Поверхность сети покрыта клейким веществом.

Иногда грибы образуют мицелиальные тяжи и ризоморфы, состоящие из параллельно расположенных и соединенных между собой гиф. Они выполняют проводящие функции. Ризоморфы хорошо развиты, например, у осеннего опенка (*Armillariella mellea*), у которого они достигают в длину нескольких метров и имеют вид темноокрашенных шнурков, пронизывающих древесину и располагающихся под корой. Гифы их наружных слоев имеют утолщенные, часто темноокрашенные стенки и выполняют защитные функции, а внутренние тонкостенные гифы — проводящие.

Другой тип видоизменений мицелия — распространенные у многих групп грибов склероции. Это плотные переплетения мицелия, помогающие грибу переносить неблагоприятные условия. Клетки склероциев богаты запасными питательными веществами - гликогеном, жирами; в склероциях спорыны, например, жиры составляют до 30% содержимого клеток. Часто склероции дифференцированы на кору - наружный слой клеток, обычно толстостенных и темноокрашенных, и внутреннюю часть из тонкостенных светлоокрашенных клеток. Склероции образуют очень многие грибы, у некоторых они представляют зимующие стадии.

Мицелий обычно дифференцируется на две функционально различные части: субстратный, служащий для прикрепления к субстрату, поглощения и транспортировки воды и растворенных в ней веществ, и воздушный, поднимающийся над субстратом и образующий органы размножения.

2. Наименование вопроса № 2

На мицелии развиваются органы размножения грибов. В отличие от мицелия они крайне разнообразны по морфологии. Их строение служит основой современной систематики грибов.

Размножение грибов происходит при помощи спор, а также кусочков мицелия, склероциев и других структур. Любой элемент, который может дать начало новому мицелию, часто называют диаспорой или пропагулой.

По происхождению диаспоры могут быть специализированными, т. е. образующимися специально для размножения (споры), или неспециализированными (например, фрагменты мицелия).

Размножение неспециализированными диаспорами получило название вегетативного, так как оно происходит за счет участков или структур вегетативного тела грибов.

Мицелиальные грибы чаще размножаются кусочками мицелия. Этот способ обычно используют для размножения многих грибов, например шампиньонов, вешенки, летнего опенка и др.

Споры грибов служат для размножения. Они состоят из одной или нескольких клеток и имеют микроскопические размеры - от 1-2 до 100 мк и более. Споры содержат мало запасных питательных веществ, только немногие выживают и, попав в подходящие условия, прорастают, давая начало новому мицелию. Однако гибель компенсируется образованием огромного количества спор. Попадая в благоприятную среду, небольшое количество спор дают начало новому мицелию. Большинство из них гибнут, поэтому все грибы образуют огромное число спор. Так, шампиньоны дают примерно 40 млн. спор в час, трутовик — до 30 млрд.

По происхождению и роли в жизни грибов споры делятся на две большие группы: споры бесполого размножения и споры полового размножения. Споры бесполого размножения: артроспоры, хламидоспоры, бластоспоры, оидии, спорангииоспоры, зооспоры, конидии.

3. Наименование вопроса №3.

Плодовое тело — репродуктивная часть организма гриба, образующаяся из переплетённых гиф мицелия. Функцией плодового тела является образование спор, возникающих в результате полового процесса. В обиходе плодовое тело обычно называется просто «гриб». Половое размножение у грибов особенно многообразно. У некоторых групп грибов половой процесс происходит путем слияния содержимого двух клеток на концах гиф. У сумчатых грибов при этом наблюдается слияние содержимого антеридия и женского органа полового размножения (архегония), не дифференцированного на гаметы, а у базидиальных грибов — слияние содержимого двух вегетативных клеток, при котором между ними часто образуются выросты, или анастомозы. Плодовыми телами называют также спороносящие органы слизевиков.

1. 3 Лекция №3 (2 часа).

Тема: «Размножение грибов»

1.3.1 Вопросы лекции:

1. Вегетативное размножение: регенерация участков мицелия, деление и почкование дрожжей. Переходные варианты между вегетативным и бесполым размножением (образование артроспор, хламидоспор и др.).
2. Бесполое размножение. Зооспоры, их различные типы. Спорангии, различные их типы.
3. Различные типы конидий, основы их морфологической и онтогенетической классификаций

1.3.2 Краткое содержание вопросов:

1. Наименование вопроса № 1

Грибы могут появиться даже из одной клетки, которая является диаспорой. Чаще всего от грибницы отделяется часть, которая становится самостоятельным организмом. При таком способе не нужен орган размножения. У грибов просто часть мицелия отделяется от основного организма, отпочковывается.

Почкование — способ вегетативного размножения грибов. Характерно для грибов с дрожжеподобным талломом. При этом дочерняя клетка отпочковывается от материнской, отделяется перегородкой и дальше обычно функционирует, как самостоятельный одноклеточный организм. Дрожжевая клетка не может почковаться бесконечно. Число прошедших делений можно установить по хитиновым кольцам, остающимся на месте отделения почки. В популяции дрожжевых клеток старые клетки составляют наименьшую часть, они крупнее молодых. Переходные варианты между вегетативным и бесполым размножением — это *артроспоры, хламидоспоры* и др. *Артроспоры (оидии)* — специализированные клетки вегетативного размножения грибов. Образуются в результате распадения гиф, начиная с их концов, на отдельные членники, которые в дальнейшем дают начало новому мицелию

Половые спороношения (тлеморфы). Половое размножение служит для распространения индивидуального штамма и переживания неблагоприятных условий, оно также способствует генетической стабилизации видов. Примерно у 70% грибов в цикле развития есть половая фаза, которая предусматривает плазмогамию, половую копуляцию, кариогамию, мейоз и, как правило, образование мейоспор. Между этими кардинальными пунктами гриб может расти вегетативно, увеличивать свою биомассу, накапливать энергию и обычно размножаться бесполовым путем. Циклы развития — отличительный

признак таксонов грибов. Оидии снабжены тонкой оболочкой и недолговечны. Они встречаются у голосумчатых и других грибов. Геммы служат для вегетативного размножения грибов. Это отдельные участки мицелия, покрытые толстой оболочкой, образуются у форм с многоядерным неклеточным мицелием. Геммы считают разновидностью оидий, от которых геммы отличаются более плотной темной оболочкой и способностью дольше сохраняться (например, в зимний период). Геммы известны у многих сумчатых, несовершенных, а также некоторых головневых грибов. Хламидоспоры служат для вегетативного размножения грибов. Имеют темноокрашенные утолщенные оболочки и способны переносить неблагоприятные условия. Возникают путем уплотнения и обособления содержимого отдельных клеток мицелия, которые при этом покрываются толстой темноокрашенной оболочкой. Освободившиеся из клеток материнских гиф хламидоспоры способны долго сохраняться при неблагоприятных условиях. Прорастая, они образуют органы спороношения или мицелий. Хламидоспоры образуются у многих базидиомицетов (например, головневых), дейтеромицетов, оомицетов.

2. Наименование вопроса №2

Бесполое размножение играет важную роль в распространении грибов в природе, заселении субстратов и является одной из отличительных особенностей этих организмов. Осуществляется спорами, которые образуются бесплодотворения на особых органах, отличающихся по форме и строению от вегетативных гиф мицелия. При эндогенном способе образования спор различают 2 типа спороносящих органов – *зооспорангий* и *спорангий*. Экзогенно образуются конидии.

Споры грибов - структуры, участвующие в размножении. Главная функция спор: образование новых особей данного вида; их расселение в новые места обитания. Различны по происхождению, строению и способами расселения. Могут быть защищены многослойной защитной оболочкой или не иметь даже клеточной стенки, они могут быть одно- или многоклеточные, распространяться с помощью ветра, воды, животных или активно передвигаться, используя жгутики.

Зооспоры – структуры бесполого размножения грибов. Голые участки протоплазмы, лишенные дополнительной оболочки, чаще с одним ядром, иногда с несколькими ядрами, с одним или несколькими жгутиками. Снаружи жгутики бывают гладкие либо перистые. Жгутики зооспор имеют внутреннюю структуру, характерную для большинства эукариот, служат для расселения грибов, содержат мало питательных веществ и не способны сохранять жизнеспособность в течение длительного времени. Развиваются эндогенно в зооспорангиях. Как правило, зооспорангии образуются прямо на вегетативных гифах, без специализированных спорангииносцев. При помощи жгутиков зооспоры активно передвигаются в воде. Зооспорами размножаются многие низшие грибы, ведущие преимущественно водный способ жизни, но зооспорангии имеются и у некоторых наземных грибов, развивающихся на сухопутных растениях (хитридиевые, оомицеты).

Спорангиоспоры (апланоспоры)- структуры бесполого размножения грибов. Неподвижные, лишенные органов движения, многоядерные, одетые оболочкой. Служат для расселения грибов, содержат мало питательных веществ и не способны сохранять жизнеспособность в течение длительного времени. Формируются эндогенно внутри спорогенных органов (спорангии). Споры покидают спорангий через отверстия в оболочке (крышечки, трещины, поры) или при разрушении последней. Эндогенное спороношение характерно для более примитивных грибов. Спорангиоспорами осуществляется бесполое размножение у зигомицетов.

Спорангий – спороносящий орган, внутри которого развиваются неподвижные споры бесполого размножения, имеющие оболочку. У большинства мицелиальных грибов спорангии формируются из вздутия апекса гифы после его отделения от материнской гифы септой. В ходе спорообразования протопласт спорангия многократно делится, распадаясь на сотни и тысячи спор. У некоторых грибов гифы, несущие спорангии,

морфологически отличаются от вегетативных гиф. В этом случае их называют спорангиеносцами.

3. Наименование вопроса №3.

Конидии - это споры бесполого размножения, образующиеся экзогенно на поверхности спороносящего органа – конидиеносца, представляющего специализированные ветви мицелия. Типичные конидии характерны для сумчатых, базидиальных и анаморфных грибов (это в основном наземные организмы). Несовершенные грибы (действомицеты) размножаются только конидиями. Способы образования конидий, их форма и тип, объединения и способы размещения чрезвычайно разнообразны. Конидии могут быть одноклеточными и многоклеточными, разнообразной формы – овальной, округлой, вытянутой, веретеновидной, серповидной. Варьирует и интенсивность их окраски – от бесцветных до желтоватых, дымчатых, бурых, оливковых, розовых. Освобождение конидий происходит, как правило, пассивно, хотя у некоторых грибов наблюдается активное их отбрасывание. У конидий возникли и многочисленные адаптации, облегчающие их распространение. Некоторые конидии имеют сухую, плохо смачивающуюся поверхность и легко переносятся токами воздуха, другие погружены в слизь и переносятся водой или насекомыми. У вторичноводных грибов конидии часто имеют причудливую форму, которая обеспечивает длительное парение их в толще воды. При этом конидии переносятся токами воды на большие расстояния.

1. 4 Лекция №4 (2 часа).

Тема: «Размножение грибов (половые размножение)»

1.4.1 Вопросы лекции:

1. Половое размножение.
2. Половой процесс аскомицетов и его морфологические и функциональные вариации; переход от гаметангиогамии к соматогамии в этом классе. Основные типы плодовых тел и сумок у аскомицетов.
3. Половой процесс базидиомицетов. Морфологическое строение плодовых тел гимено и гастеромицетов.
4. Половой процесс ржавчинных и головневых грибов.

1.4.2 Краткое содержание вопросов:

1. Наименование вопроса № 1

Половое размножение у грибов происходит в разнообразных формах. Наиболее изучены из них мерогамия, соматогамия, хологамия, гаметангиогамия, зигогамия, изогамия, гетерогамия, оогамия, и парасексуальный процесс.

Мерогамия характерна для наиболее примитивных представителей хитридиевых грибов с вегетативным телом в виде плазмодия. Функцию гамет при этом выполняют одноядерные участки вегетативного плазмодия; отделяясь от вегетативного тела и совершая амебоидные движения, эти участки сливаются, образуя зиготу.

Соматогамия - самый распространенный тип полового процесса, наиболее простой. При соматогамии гаметы и половые органы отсутствуют, а сливаются обычные вегетативные клетки мицелия. Соматогамия часто происходит путем образования анастомозов между гифами мицелия. Иногда она протекает даже без слияния клеток, просто сливаются ядра внутри клетки. Соматогамия известна для многих грибов, например, аскомицетных дрожжей, многих базидиомицетов. У грибов с соматогамным половым процессом известны гомоталличные и гетероталличные формы. Гомоталличные грибы имеют соматогамный половой процесс, который может происходить между клетками одного и того же мицелия. Гетероталличные грибы имеют соматогамный половой процесс, при котором сливаются клетки разных половых знаков, образующиеся на разных мицелиях.

Хологамия – одна из форм соматогамного полового процесса - слияние одноклеточных талломов (хитридиомицеты, гифохитридиомицеты, некоторые дрожжеподобные грибы).

Гаметангиогамия состоит в слиянии двух специализированных обособленных участков мицелия партнеров, не дифференцированных на гаметы. Гаметангиогамия – более усложненный тип полового процесса. Характерна для многих зигомицетов и аскомицетов.

Зигогамия - тип гаметангиогамии у зигомицетов. Характеризуется слиянием двух специализированных многоядерных клеток, которые морфологически хорошо отличимые от мицелия. У некоторых видов эти клетки принадлежат одному и тому же мицелию (гомоталличные виды), у большинства – к разным мицелиям (гетероталличные виды). Морфологически эти клетки идентичны, но их ядра имеют разные половые знаки (+) и (-). После плазмогамии ядра разных половых знаков сливаются, и образуется зигота с многочисленными диплоидными ядрами. Она покрывается многослойной плотной оболочкой и превращается в зигоспору. После периода покоя в ней происходит мейоз, и прорастает гаплоидная гифа, на верхушке которой формируется спорангий с гаплоидными спорангиеспорами.

Плазмогамия – процесс слияния протопластов клеток грибов без слияния ядер при половом процессе.

Зигоспора - спора, образующаяся в результате зигогамии у зигомицетов с многочисленными диплоидными ядрами, покрытая многослойной плотной оболочкой.

Гаметогамия - форма полового процесса у грибов. Характеризуется слиянием специализированных гамет, образующихся в гаметангиях. Часто наблюдается у низших грибов. Может быть изогамной (слияние морфологически идентичных гамет) и гетерогамной (слияние гамет, различающихся по размеру). Изогамия и гетерогамия встречаются только у низших грибов – хитридиомицетов.

Оогамия - форма полового процесса у грибов (слияние крупной неподвижной яйцеклетки с мелким подвижным сперматозоидом или антеридием – мужским половым органом, не дифференцированным на гаметы). При оогамном половом процессе крупные неподвижные яйцеклетки, формирующиеся в оогониях, оплодотворяются мелкими подвижными сперматозоидами, развивающимися в антеридиях. Классическая оогамия у грибов вообще отсутствует. Даже оомицеты, названные так из-за наличия у них оогамии, не имеют мужских гамет, а яйцеклетки в оогонии лишены собственной клеточной стенки. У некоторых сумчатых грибов отсутствует антеридий, и оогоний оплодотворяется вегетативной гифой. У некоторых видов спермации несут двойственные функции – мужских гамет и спор бесполого размножения (конидий). У многих грибов при таком типе полового процесса сперматозоиды не образуются, и яйцеклетки оплодотворяются выростами антеридиев.

2. Наименование вопроса № 2

Половой процесс высших грибов (аскомицеты и базидиомицеты) имеет некоторые особенности. У подавляющего большинства видов этих грибов половой процесс разделен на две фазы - плазмогамию и кариогамию, разделенных во времени и пространстве. Вначале происходит слияние (ассимиляция) двух разнокачественных плазм (*плазмогамия*), ядра при этом не сливаются, а попарно сближаются, формируя дикарион. И только через некоторый промежуток времени (длительность которого весьма различна у разных представителей высших грибов) и в другом образовании происходит кариогамия - слияние ядер дикариона и формирование диплоидного ядра. В отличие от низших грибов, у высших диплоидное ядро сразу же претерпевает редукционное деление и развитие продолжается без формирования зиготы, переходящей в состояние покоя.

Кариогамия - слияние ядер дикариона и формирование диплоидного ядра. Дикарион - клетка гриба, содержащая сближенные, но не слившиеся гаплоидные мужское и женское ядра. Возникает при половом процессе у аскомицетов и базидиальных грибов.

Половой процесс у аскомицетов протекает в форме гаметангиомии. При этом на вегетативном гаплоидном мицелии закладываются гаметангии - женский архикарп, состоящий из двух морфологически дифференцированных частей: нижней вздутой - аскогона, и верхней, вытянутой - трихогины, и мужской одноклеточный- антеридий. При созревании ядер антеридий прикладывается к трихогине, оболочка между ними растворяется, и все содержимое антеридия через трихогину переливается в аскогон. Здесь происходит плазмогамия и формирование дикарионов. От аскогона начинают сразу же расти аскогенные гифы, куда переходят дикарионы; ядра дикарионов постоянно синхронно митотически делятся и таким образом в каждой клетке аскогенных гиф находится по дикариону. Завершение полового процесса - кариогамия - происходит в конечной клетке аскогенных гиф, в сумке. Сформировавшееся диплоидное ядро сразу же редукционно делится, затем следует митотическое деление, вокруг каждого из гаплоидных ядер обособляется цитоплазма, вырабатывается оболочка и процесс завершается формированием восьми сумкоспор - гаплоидных спор полового спороношения эндогенного происхождения. Однако у многих представителей аскомицетов отмечаются значительные отклонения от этого типичного способа полового процесса. Основные отклонения заключаются: в отсутствии гаметангиев, когда их роль выполняют вегетативные клетки; в отсутствии антеридия, когда ядра попарно сближаются в многоядерном аскогоне. Антеридий - мужской гаметангий – одноклеточный орган полового размножения (гаметангиомии) у аскомицетов. Закладывается на вегетативном гаплоидном мицелии.

Сумка (аска) – специфический орган полового спороношения у аскомицетов (сумчатых грибов). Образуются на развивающихся из зиготы аскогенных гифах. Сумки — микроскопически мелкие структуры, размеры которых не превышают нескольких микрон и могут быть видимы только с помощью микроскопа. Представляют собой округлые, булавовидные или цилиндрические клетки, внутри которых образуются споры полового размножения, называемые аскоспорами. Сумки часто образуются не на мицелии, а на специальных плодовых телах разнообразного строения.

Аскоспоры (сумкоспоры) – гаплоидные споры полового спороношения эндогенного происхождения у аскомицетов. Аскоспоры бывают овальными и шаровидными, нитевидными и веретеновидными, с одним или более ядром. Они могут быть бесцветными или окрашенными, с гладкой или орнаментированной оболочкой. Образуются в сумке.

3. Наименование вопроса № 3

Половой процесс у базидиомицетов происходит в форме соматогамии. При этом плазмогамия происходит между клетками вегетативных гаплоидных мицелиев путем возникновения анастомозов между ними. Сразу же после формирования дикарионов начинает развиваться дикариотический мицелий, являющийся у базидиальных грибов доминирующей стадией жизненного цикла. Кариогамия происходит в конечной клетке гифы такого мицелия, преобразующейся в базидию. Именно в базидии образуется диплоидное ядро, которое сразу же редукционно делится, а гаплоидные ядра участвуют в образовании базидиоспор - спор полового спороношения экзогенного происхождения.

Базидия - специфический орган полового спороношения у базидиомицетов (базидиальных грибов). Это клетки цилиндрической или булавовидной формы или структуры, состоящие из двух-четырех клеток. Базидии — микроскопически мелкие структуры, размеры которых не превышают нескольких микрон и могут быть видимы только с помощью микроскопа. На их поверхности на тонких ножках, называемых стеригмами, экзогенно образуются споры полового спороношения (базидиоспоры). Базидии часто образуются не на мицелии, а на специальных плодовых телах разнообразного строения.

Стеригмы – (греч. *sterigma* подпора) клетки или выросты на поверхности органов спороношения многих грибов: тонкие отростки на верхушке базидий, на которых

находятся базидиоспоры у Basidiomycetes и некоторых лишайников; короткие цилиндрические клетки, от которых отчленяются конидии у некоторых несовершенных грибов; тонкий участок спороносца грибов, на котором развиваются опоры.

Базидиоспоры - споры полового спороношения экзогенного происхождения у базидиомицетов. Возникают в виде выростов на тонких ножках (стеригмах) на верхнем конце базидии. Они одноклеточные, почти всегда одноядерные, бесцветные или окрашенные, с гладкой оболочкой или шиповатые.

Дикариотический мицелий — мицелий, в котором клетки содержат два гаплоидных ядра. У базидиомицетов является доминирующей стадией жизненного цикла.

Половые феромоны - гормональные соединения, регулирующие протекание разных стадий полового процесса у грибов. Действие этих соединений осуществляется через окружающую среду.

Чередование ядерных фаз в цикле развития большинства высших грибов – гаплоидной, дикариотической (фаза парного расположения ядер) и диплоидной. Гаплоидная и дикариотическая фазы отличаются наибольшей продолжительностью, а диплоидная кратковременная, так как вслед за образованием диплоидных копуляционных ядер начинается процесс редукционного деления.

Гетерокариоз – содержание в мицелии генетически различных ядер. При развитии такого гетерокариотического мицелия число ядер разного типа может варьировать, обеспечивая адаптацию гриба к изменяющимся условиям среды. Известен у грибов из разных таксономических групп (Oomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes), но наиболее часто встречающееся у несовершенных грибов (Deuteromycetes). Гетерокариоз представляет собой основу механизма изменчивости несовершенных грибов.

Парасексуальный процесс -рекомбинация, происходящая в гетерокариотическом мицелии при митотическом делении слившихся ядер. Он состоит из нескольких этапов: слияние ядер гетерокариона и образование диплоидного гетерозиготного ядра; размножение таких гетерозиготных ядер в мицелии; митотическая рекомбинация во время размножения диплоидных ядер; последующее митотическое расщепление диплоидов, приводящее к появлению гаплоидных или диплоидных рекомбинантов. Как и половой процесс, парасексуальный процесс даёт клеткам возможность рекомбинации и появления новых геномов у потомства. В отличие от полового процесса, у парасексуального процесса отсутствует чёткая регулярность, и он происходит исключительно при митозе. Парасексуальный процесс особенно важен у грибов, не имеющих полового процесса, так как у них это — единственный путь осуществления рекомбинации, а значит, и поддержания генетического разнообразия.

Гетерокариотический мицелий — мицелий, который содержит генетически различные ядра. Известен в различных таксономических группах грибов — Oomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes, но наиболее часто встречается у несовершенных грибов (Deuteromycetes).

Плеоморфизм — формирование в жизненном цикле нескольких спороношений разного типа – полового и бесполого.

Телеоморфа - стадия жизненного цикла высших грибов, характеризуется наличием полового размножения.

Анаморфа -стадия жизненного цикла высших грибов, характеризуется наличием бесполого размножения. Совокупность анаморф высших грибов, прежде всего аскомицетов, составляет группу несовершенных грибов (дeутеромицетов).

1. 5-6 Лекция №5-6 (4 часа).

Тема: «Генетика грибов»

1.5-6.1 Вопросы лекции:

1. Роль грибов, как модельных объектов, в изучении фундаментальных проблем генетики и роль генетики в решении проблем фундаментальной и прикладной микологии.
2. Грибной геном и его изменчивость.
3. Популяционная и эволюционная генетика грибов.
4. Прикладные вопросы генетики грибов.

1.5-6.2 Краткое содержание вопросов:

1. Наименование вопроса №. 1

Особую роль в генетическом анализе играют так называемые модельные объекты, работая с которыми исследователь может значительно ускорить и облегчить процесс анализа. Модельным объектом обычно считают организмы, удовлетворяющие большинству требований экспериментатора при решении определенной генетической задачи, прежде всего обеспечивающие большую разрешающую способность анализа. Со времен Менделя в практику генетических исследований введены многие модельные объекты, которые используются для решения различных генетических задач. Это дрозофилы, кукуруза, мышь, дрожжи, нейроспора, кишечная палочка (*E. coli*) и др.

Дрожжи - одноклеточные грибы - относятся к классу *Ascomycetes*. Дрожжевая клетка содержит дискретное ядро, окруженное ядерной мембраной, и другие органеллы (например, митохондрии), а также два типа плазмид. Жизненный цикл включает гапло- и диплофазу. Расщепление анализируется либо на случайной выборке спор, либо методом тетрадного анализа. Все штаммы *Saccharomyces cerevisiae* могут расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях, что делает их хорошим объектом для изучения генетики митохондрий. К недостаткам дрожжей можно отнести очень мелкие, практически невидимые в световом микроскопе хромосомы, что исключает возможность проведения на них цитогенетических исследований. Первые работы по генетике микроорганизмов связаны с дрожжами. Это изучение влияния рентгеновских лучей на изменчивость (Надсон, Филиппов, 1925). С 1937 г. начались систематические работы по гибридизации дрожжей. На них проведено изучение механизмов конверсии генов и разработаны модели рекомбинационного анализа; они используются почти во всех экспериментах по биохимической и молекулярной генетике.

Нейроспора - хлебная плесень - многоклеточный гриб, его вегетативное тело состоит из нитей (гифов), переплетение которых образует мицелий. Клетки гриба многоядерны, и ядра гаплоидны, перегородки между стенками клеток мицелия имеют отверстия, так что цитоплазма гриба объединена. На гифах формируются вегетативные споры (конидии) с разным числом ядер: многоядерные макроконидии или одноядерные микроконидии, при прорастании которых вновь образуется мицелий. В генетических исследованиях нейроспора появляется в 40-х гг. нашего столетия, и опыты на ней позволяют сформулировать основополагающую гипотезу "один ген - один фермент". На нейроспоре получены прямые доказательства закона чистоты гамет, прохождения кроссинговера на стадии четырех нитей; разработан метод тетрадного анализа, на ней ведется изучение митохондриального наследования; биохимических и молекулярных генетических процессов.

Представитель класса *Ascomycetes* из семейства *Aspergillaceae*. Это гомоталлический гриб, половой цикл которого сходен с циклом нейроспоры. На аспергилле Понтекорво с сотрудниками (1952) открыл парасексуальный процесс, доказав существование митотической рекомбинации. Это дало возможность использовать парасексуальный процесс в генетическом анализе не только на аспергилле, но и на других грибах. На аспергилле впервые был разработан специальный метод картирования с использованием гаплоидизации гетерозиготных диплоидов, на нем применяют те же методы генетического анализа, что и на других микроорганизмах - анализ случайной выборки спор, митотической сегрегации и др.

2. Наименование вопроса №.2.

Царство грибов характеризуется разнообразием жизненных циклов и вариантов ядерного статуса. Признаки, определяющие ядерный статус грибов: число ядер в клетке (одно — монокарион; два — дикарион; много — мультикарион); состав ядер (генетически однородный — гомокарион, разнородный — гетерокарион); полидность ($1n$ — гаплоиды; $2n$ — диплоиды; $>2n$ — полиплоиды); состав хромосом (гомозиготы; гетерозиготы).

Геном грибов, как и у всех эукариот, состоит из ядерных и митохондриальных ДНК-содержащих структур, к элементам, отвечающим за наследственность относят также плазмиды и вирусы. По размеру и строению ядерного генома настоящие грибы занимают как бы промежуточное положение между прокариотами и остальными эукариотами, в среднем размер генома грибов на 2 порядка меньше, чем у высших растений. Число хромосом колеблется от 2 до 28, у большинства видов — от 10 до 12. Размер хромосом у грибов также значительно меньше, чем у других эукариот. Так, у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* имеется 15 хромосом, но каждая из них примерно в 5 раз меньше, чем «хромосома» бактерии *Escherichia coli* и всего в 4 раза превышает размер ДНК бактериофагов группы T. Количество ДНК на гаплоидный геном составляет от 0,015 пг до 8,3 пг, то есть колеблется более, чем в 500 раз. По числу нуклеотидных пар русск. наименьший геном имеет *Eremothecium gossypii*, поражающий хлопчатник. Среди эукариот меньший размер генома известен только у некоторых водорослей, не живущих свободно, а являющихся эндосимбионтами. Для базидиомицетов характерные размеры генома составляют от 0,023 пг у вёшенки обыкновенной до 0,1 пг у плютея оленьего.

Характерной особенностью, обнаруженной у некоторых видов грибов, является наличие мелких, так называемых В-хромосом (рус.). В отличие от «нормальных» хромосом, число их непостоянно и может быть различным у штаммов одного и того же вида. Наличие В-хромосом не обязательно для обеспечения жизнедеятельности клетки, но они выполняют функцию адаптации к внешним условиям. Например, у фитопатогенных видов эти хромосомы контролируют факторы вирулентности и штаммы, лишённые их, способны только к сапротрофному питанию.

Промежуточное положение между бактериями и высшими эукариотами грибы занимают и по структуре ядерного генома. Для эукариот характерно наличие множества повторяющихся последовательностей ДНК, на долю которых приходится 10—50 и более процентов от всего генома, что отчасти и обуславливает большой размер эукариотического генома. У бактерий повторяющиеся последовательности почти отсутствуют, а у грибов составляют обычно 10—15 % генома. Известны лишь единичные исключения, например, зигомицет *Phycomyces blakesleeanus*, у которого геном состоит на 45 % из повторяющихся последовательностей. Грибоподобные организмы, не относящиеся к царству настоящих грибов, по размерам повторяющихся последовательностей сходны с высшими эукариотами.

Структура грибных генов аналогична таковой у других эукариот — гены состоят из экзонов и инtronов, интроны однако у грибов также отличаются меньшими размерами. Средняя длина их составляет 85 н. п., а размах значений длины — от 36 до 250 н. п. Благодаря такой структуре генома и самих генов, у грибов больший процент ДНК участвует в кодировании белков.

Митохондриальный геном грибов представлен кольцевыми молекулами mtДНК, размер которых варьирует от приблизительно 20 000 н. п. до более, чем 100 000 н. п. Эта ДНК содержит как некодирующие участки, так и гены, кодирующие рибосомные и транспортные рибонуклеиновые кислоты, а также такие ферменты, как цитохромоксидазы, АТФазы, являющиеся необходимыми компонентами дыхательной цепи. Организмом с хорошо изученным митохондриальным геномом являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. У них имеется 20—70 молекул mtДНК, упакованных в один или несколько нуклеоидов, что составляет 5—30 % от всего генома. Размер mtДНК у этих дрожжей составляет 85 779 н. п., она содержит значительную долю некодирующих

участков, 2 гена рРНК, 25 генов тРНК и 26 генов, кодирующих ферменты окислительного фосфорилирования. Мутации в митохондриальных генах часто оказываются летальными или приводят к снижению скорости роста, дыхательной активности грибов.

Плазмиды у эукариот наиболее характерны для царства грибов. Предполагают, что наличие их связано со спецификой физиологии и среды обитания грибов и даёт им преимущества в прорастании и распространении.

Грибные плазмиды могут находиться в ядре, митохондриях или в цитоплазме и представляют собой линейные или кольцевые молекулы ДНК. Большинство плазмид принадлежат митохондриям и обычно их наличие не проявляется в фенотипе, однако известны плазмиды, связанные с патогенностью штаммов, так называемые *killer*-плазмиды, и плазмиды, вызывающие старение колонии. *Killer*-плазмиды отвечают за синтез определённых токсинов и одновременно за устойчивость к этим токсинам, то есть клетки, имеющие такие плазмиды убивают клетки, не имеющие их.

Плазмиды грибов разделяют на три класса в зависимости от структуры молекулы и наличия гомологии с мтДНК: линейные, не имеющие гомологичных последовательностей с митохондриальным геном; циклические, не имеющие гомологий с мтДНК — могут вызывать синдром старения; циклические, имеющие гомологии с мтДНК — вызывают синдром старения.

Плазмиды могут передаваться через анастомозы мицелия и через конидии, также могут являться не видоспецифичными, что делает их идеальными для использования в качестве векторов переноса в генетической инженерии.

Митоз и мейоз у грибов отличаются рядом специфических особенностей. У большинства видов грибов деление ядра происходит по закрытому типу, то есть с сохранением ядерной оболочки. Центриоли имеются лишь у псевдогрибов и некоторых грибов, имеющих жгутиковые стадии, у остальных видов веретено деления формируется более просто устроенными белковыми структурами — полярными тельцами веретена русск.. Фазы митоза чередуются быстро, а хромосомы имеют небольшие размеры; в сочетании эти факторы затрудняют микроскопическое исследование, поэтому ранее считалось, что деление ядер у грибов происходит амитотически. Телофаза митоза происходит несинхронно, в результате чего могут образовываться гетеропloidные дочерние ядра, то есть содержащие неравное число хромосом. Чаще всего при гетеропloidии наблюдается различное число В-хромосом. Митоз и образование новых клеток у мицелиальных грибов происходят независимо друг от друга — ядра перемещаются в дочернюю клетку уже после отделения её перегородкой от материнской.

Рекомбинация генетического материала у грибов может происходить не только в мейозе, но и в митозе.

При мейотической, или половой рекомбинации у высших грибов диплоидное ядро без периода покоя делится редукционно с образованием тетрады — четырёх гаплоидных ядер, после чего может произойти ещё одно деление и образуется октада. Затем ядра тетрады или октады отделяются оболочками и образуют мейоспоры. Исследования фенотипа непосредственных продуктов мейоза называют тетрадным анализом. Этот метод позволяет определить истинное расщепление признаков, а не статистически достоверное, как в «обычных» генетических экспериментах, подобных опытам Г. Менделя. Тетрадный анализ широко применяется на модельных аскомицетах, у которых споры в асках располагаются в строгом порядке, обусловленном постоянной ориентацией веретена деления при мейозе и последующем митозе. Применение тетрадного анализа позволяет получить ценную информацию о сцеплении генов, механизме рекомбинации и др.

Митотическая рекомбинация происходит путём слияния гаплоидных ядер в многоядерных вегетативных клетках, при слиянии генетически разнородных ядер образуется гетерозиготный диплоид. В природных условиях вероятность образования такой гетерозиготы высока, поскольку мицелий вырастает из множества генетически неоднородных спор. Впоследствии при митотическом делении такого ядра происходит

рекомбинация. Впервые это явление наблюдалось в 1952 году английским микологом Дж. Ропером, а итальянский генетик Г. Понтекорво русск. назвал его парасексуальным процессом. Особое значение парасексуальный процесс имеет для «несовершенных грибов», у которых половая рекомбинация отсутствует или образование совершенных стадий происходит очень редко.

У различных таксономических групп грибов выделяют до 7 типов жизненного цикла.

Бесполый цикл характерен для нескольких десятков тысяч видов аскомицетов и базидиомицетов, утративших половую стадию — так называемых дейтеромицетов. Мейоз у этой группы отсутствует и полидность неизвестна, рекомбинации происходят в парасексуальном цикле.

Гаплоидный цикл известен у зигомицетов, многих хитридиомицетов. Мицелий содержит множество гаплоидных ядер, которые делятся митотически по мере роста гиф. Диплоидная стадия представлена только зиготой, которая после периода покоя делится мейотически и даёт начало новому гаплоидному поколению. Гаплоидный цикл с ограниченным дикарионом характерен для большинства аскомицетов, мицелий их также чаще всего бывает гаплоидный мультикариотический. Гаметы или гаметангии вначале сливаются цитоплазмами без слияния ядер и прорастают дикариотическими гифами, называемыми также аскогенными. На концах аскогенных гиф формируются сумки, в которых происходит кариогамия, затем без периода покоя диплоидное ядро делится мейозом и даёт гаплоидные аскоспоры. Скрытая изменчивость у этих грибов отсутствует, так как все рецессивные мутации сразу проявляются в фенотипе.

Гаплоидно-дикариотический цикл встречается у многих базидиомицетов — гименомицетов, гастеромицетов, ржавчинных грибов. Он сходен с предыдущим, но характеризуется длительной стадией дикариона, которая чаще всего бывает доминирующей. Стадия первичного гаплоидного мицелия также может быть длительной.

Дикариотический цикл характерен для ограниченной группы базидиомицетов — головнёвых грибов. Гаплоидная фаза у них представлена базидиоспорами и прорастающими из них одноядерными споридиями, которые способны расти на питательной среде. Сливаясь попарно, споридии формируют дикариотический мицелий.

Гаплоидно-диплоидный цикл встречается у низших водных грибов — бластокладиевых, хитридиомицетов. Диплоидный спорофит образует зооспоры, прорастающие в такие же диплоидные спорофиты и мейоспорангии, дающие начало гаплоидному половому поколению — гаметофитам. Такой тип жизненного цикла характерен для многих водорослей, а у грибов встречается редко.

Диплоидный цикл известен у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и других сахаромицетов, кроме настоящих грибов характерен также для оомицетов, например, *Phytophthora infestans*. Преобладает диплоидная стадия почекующихся клеток, ядра которых в определённых условиях делятся мейозом и формируют гаплоидные аскоспоры. Клетки гаплоидного поколения также способны почковаться, но чаще диплоидизируются слиянием, то есть выполняют функцию гамет. Рецессивные мутации у этих грибов, как и у высших эукариот, могут сохраняться скрыто и появляться в потомстве после рекомбинаций.

1. 7 Лекция №7 (2 часа)

Тема: «Физиология грибов»

1.7.1 Вопросы лекции:

1. Строение клетки и химический состав мицелия грибов.
2. Питание и дыхание грибов
3. Покой, активация и прорастание спор.

1.7.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1

Грибная клетка имеет ряд специфических особенностей, отличающих ее от растительной клетки и послуживших в числе других аргументов основанием для выделения грибов в самостоятельное царство живой природы. Клеточная оболочка у грибов выполняет роль защитного барьера и, кроме того, непосредственно участвует в процессах питания гриба и обмена веществ между клеткой и внешней средой. Оболочка клетки может быть однослойной или многослойной, разнообразной по химическому составу.

Строение, состав и свойства клеточной оболочки зависят от вида гриба и функций клетки. Они могут изменяться с возрастом, при переходе из одной фазы развития в другую, под влиянием условий питания и других факторов. Основу оболочки составляют полисахариды (например, целлюлоза), простые сахара, белки, липиды и фосфаты. Кроме того, в ее состав входят лигниноподобные вещества, производные нуклеиновых кислот, аминокислоты, различные соли, смолы, а также хитин, свойственный покровными тканям насекомых, хитозан, Р-глюкан. Эти и другие компоненты содержатся в оболочках клеток грибов в самых разнообразных сочетаниях, образуя сложные комплексы, характерные для определенных систематических групп грибов. Оболочки молодых клеток обычно тонкие, бесцветные, однородные по структуре. По мере старения оболочка может утолщаться, ослизняться, становиться более темной благодаря отложению пигментов. Наружные слои оболочки клеток (особенно спор) многих грибов кутилизированы, пропитаны воском и жиром, что делает их не смачиваемыми. У трутовых грибов, особенно часто в плодовых телах, наблюдаются лигнификация и опробковение оболочек гиф.

По строению ядерного аппарата грибы относятся к эукариотам. Ядро в клетках грибов четко обособлено, снабжено оболочкой и содержит ядрышко. У грибов разных систематических групп число ядер в клетке неодинаково. Хорошо развитый несептирированный мицелий низших грибов содержит много ядер. У большинства сумчатых грибов (за исключением мучнисто росяных) и базидиомицетов клетки одно- или двуядерные, в зависимости от фазы развития. Ядра обычно мелкие, в среднем 2—3 мкм (в сумках и базидиях — более крупные), круглой, овальной или веретеновидной формы, однако форма их не постоянна.

Основными компонентами грибковой клетки, активно действующей в обмене веществ, являются макромолекулы (нуклеиновые кислоты, белки, полисахариды), фосфолипиды и элементарные мембранны.

Макромолекулы грибковой клетки

Нуклеиновые кислоты. Клетки грибов содержат в 2,5 - 10 раз больше ДНК, чем бактериальные, но в 200 - 300 раз меньше, чем растительные и животные клетки. Основной функцией ДНК является хранение генетической информации, определяющей обязательную последовательность важнейших превращений. Рибонуклеиновые кислоты (РНК). В клетках гриба имеются три типа РНК — рибосомная (рРНК), матричная (мРНК) и транспортная (тРНК). Все они синтезируются на ДНК (транскрипция) и участвуют в синтезе белка (трансляция). Реакции синтеза белка на рибосомах лежат в основе многих механизмов регуляции обмена веществ.

Белки. В клетках грибов имеются два основных типа белков: *ферменты и склеропротеины.*

Ферменты грибов разнообразны как по своему происхождению, так и по активности. Ферменты. Плесневые грибы имеют богатый комплекс ферментов, позволяющий им использовать в качестве питательных субстратов многие вещества. Ферменты плесневых грибов с древнейших времен использовались человеком для осахаривания крахмала риса в восточных странах при производстве рисовой водки — саке, известной более 2500 лет. В Японии для этой цели применяют культуру гриба *Aspergillus oryzae*, образующего активную амилазу. В нашей стране и большинстве западных стран осахаривание крахмала зерна проводили при помощи амилаз проросшего зерна (солода). В настоящее время на

большинстве спиртовых заводов вместо солода применяют культуры плесневых грибов.

В специально созданных условиях плесневые грибы способны синтезировать большие количества разнообразных ферментов. При получении амилаз, пектина, протеаз, целлюлаз, глюкозо-оксидазы, каталазы используют различные виды плесневых грибов родов: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor*. Штаммы плесневых грибов одного и того же рода и даже вида могут резко различаться по количеству синтезируемых ферментов. Поэтому для промышленного производства ферментов проводят селекцию наиболее активных штаммов продуцентов ферментов путем отбора из природных условий, воздействия ультрафиолетовыми лучами или химическими мутагенами, а также подбирают оптимальный состав среды и условия культивирования. Ферменты плесневых грибов используются в качестве биокатализаторов в виде ферментных препаратов в различных отраслях пищевой и легкой промышленности, бытовой химии, медицине, сельском хозяйстве.

В грибах имеются экзогенные и эндогенные ферменты. Экзогенные ферменты (экзоферменты), например целлюлазы и протеазы, выделяются клеткой гриба во внешнюю среду, причем позднее сама клетка может поглощать продукты осуществленного экзоферментами разложения субстрата. Большинство ферментов локализуются внутри клетки гриба (эндоферменты). Различают конститутивные ферменты, действующие постоянно, и адаптивные ферменты, синтезирующиеся по мере необходимости (например, целлюлаза образуется только в присутствии целлюлозы как субстрата). Основная группа ферментов используется грибами для получения питательных веществ. Внутри своих клеток все грибы разлагают и синтезируют макромолекулы, используя для этого сходный набор гомологичных ферментов. Грибы потребляют, кроме того, почти все встречающиеся в природе органические соединения, включая сложные и нерастворимые субстраты с помощью экзоферментов; растворимые продукты разложения поглощаются их клетками и претерпевают в них дальнейшие превращения.

Протеолитические ферменты. Очень многие грибы способны к экзогенному расщеплению белков. Выделяют два основных типа протеолитических ферментов: эндопептидазы и экзопептидазы (карбоксипептидазы и аминопептидазы). Дерматофиты, относящиеся к группе кератинофильных грибов, имеют фермент кератиназу и способны успешно разлагать такие трудно усвояемые белки, как кератины кожи, волос, ногтей, перьев, когтей и т. п.

Липолитические ферменты используются грибами для расщепления жиров на глицерин и жирные кислоты, которые в дальнейшем включаются в обмен веществ. Возбудитель отрубевидного лишая (*Pityrosporum orbiculare*) обладает выраженной липолитической активностью, что иногда может быть причиной системных поражений (у недоношенных грудных детей при искусственном вскармливании интрапищевидными).

Ферменты, разлагающие полисахариды (целлюлазы, мальтоза, сахароза и т. д.), принимают активное участие в углеводном обмене веществ. Широко распространенные ферменты грибов гидролизуют крахмал, пектины и гемицеллюлозы. Особенно выражена эта активность у грибов рода *Candida*.

Склеропротеины (скелетные, опорные или структурные белки) представляют собой составные (полисахаридные) элементы клеточных стенок, определяющие их строение.

Полисахариды. Присутствуют в основном в клеточных стенках грибов. Представлены как гомополисахаридами из одинаковых мономеров (целлюлаза, хитин, глюкомананы, аглюкан и т. д.), так и гетерополисахаридами (например, глюкомананы некоторых дрожжей).

Фосфолипиды и элементарные мембранны. Элементарные мембранны входят в состав эндоплазматического ретикулума, система которого служит для внутриклеточного транспорта веществ и образует почти все поверхности раздела в цитоплазме. Мембранны содержат много липидов, среди которых фосфолипиды (например лецитин) своими

амфолитическими свойствами определяют сам принцип построения мембран. Мембранны представляют собой особенно чувствительную мишень для разнообразных ингибиторов.

Своеобразная особенность грибов — отсутствие в цитоплазме их клеток растительного крахмала. В то же время важнейшая роль, принадлежит гликогену, который обычно содержится в тканях животных. Гликоген является основным запасным веществом грибной клетки и равномерно распределяется по всей цитоплазме в виде мелких гранул. Клетки грибов содержат также большое количество метахроматина (волютина). Он относится к полифосфатам и играет важную роль в процессах обмена. Из других включений в клетках многих грибов содержатся жировые вещества; особенно богаты ими споры, плодовые тела, склероции, старые части мицелия. Жиры находятся в цитоплазме в мелкораспыленном состоянии или образуют более крупные капли (липосомы). В состав клеток мицелия, репродуктивных органов, покоящихся структур грибов могут входить и многие другие вещества: пигменты, органические кислоты и их соли, витамины, терпены (ароматические эфирные масла), токсины, смолы и др. Некоторые из них играют роль запасных питательных веществ клетки, участвуют в физиологических процессах, выполняют защитную функцию, другие являются вредными для клетки продуктами ее метаболизма.

2. Наименование вопроса №2

Питание. Плесневые грибы в качестве источников углерода могут использовать самые разнообразные соединения: сахара и полисахариды, спирты, органические кислоты, аминокислоты, белки, углеводороды, производные фенолов и многие др.

В качестве источников азота кроме органического азота большинство плесневых грибов способны усваивать нитратный и аммиачный азот. Органический азот используется главным образом в виде аминного азота, находящегося в составе NH₂-группы аминокислот. Наилучшими источниками азота аминокислот являются аспарагиновая и глютаминовая кислоты и их амиды. Использование белков возможно только после их гидролиза протеолитическими ферментами. Описаны отдельные виды грибов, способные фиксировать атмосферный азот. К их числу относится, например, *Aspergillus flavus*

Для роста и жизнедеятельности плесневых грибов необходимы минеральные вещества. Одни из них необходимы в относительно высокой концентрации, к ним относятся сера, фосфор, калий, кальций, магний, железо. Другие, их называют микроэлементами, необходимы в низких концентрациях (обычно в мкг/л). К ним относятся марганец, молибден, цинк, медь, кобальт, никель, бор и многие др.

Потребности плесневых грибов в витаминах обычно менее выражены, чем у дрожжей. Наиболее часто наблюдается потребность в тиамине, биотине, пиридоксине и мезоинозите, в то время как многие дрожжи нуждаются еще в никотиновой и пантотеновой кислотах.

3.Наименование вопроса №3.

Споры грибов являются главным источником заражения растений, а заражение и паразитическая активность возбудителя заболевания начинаются сразу же после прорастания споры. Поэтому тип прорастания, скорость и условия прорастания спор грибов имеют большое общебиологическое и практическое значение в фитопатологии.

Существуют два типа прорастания спор грибов:

1. споры прорастают с образованием ростовых трубок, развивающихся далее в гифы - вегетативное прорастание; этот тип прорастания спор наиболее распространенный. Так прорастают сумкоспоры, базидиоспоры, большинство конидий и другие бесполые и половые спороношения;

2. содержимое споры распадается внутри ее на отдельные участки, которые через разрыв споровых оболочек выходят наружу в виде зооспор (ооспоры переносоровых,

зооспорангии, «конидии» некоторых фикомицетов и, в частности, у *Phytophthora infestans* DB.).

В других случаях спора прорастает в базидию с базидиоспорами (тлейтоспоры ржавчинных грибов, хламидоспоры головневых грибов). Такое прорастание называют фруктификативным.

Для прорастания спор необходимо наличие определенных условий внешней среды: влажности, температуры, кислорода, реакции среды, питательных веществ и различных стимуляторов. Эти внешние факторы влияют на скорость, дружность и тип прорастания. У некоторых спор это влияние может проявляться в широких пределах, у других — в более узких. Для прорастания большей части спор необходимо наличие капельно-жидкой влаги, аспоры некоторых мучнисторосынных и других грибов могут прорастать при относительной влажности воздуха в пределах от 0 до 100%. Очень большое значение при процессе прорастания спор имеет температура, границы которой лежат в пределах от 0 до 30° С и выше. Температура оказывает влияние даже на тип прорастания спор. У возбудителя фитофтороза картофеля (*Phytophthora infestans* DB.) и некоторых других фикомицетов при оптимальной температуре 12—13°С конидии функционируют как зооспорангии, образуя от 8 до 16 подвижных зооспор. По мере повышения температуры увеличивается процент конидий, образующих вместо зооспор ростковые трубки. Выше 18°С зооспор образуется очень мало и период их подвижности очень сокращается. Присутствие кислорода необходимо в момент прорастания спор, но большая часть типов спор может прорастать в широких пределах колебаний концентрации кислорода. Свет умеренной яркости в большинстве случаев не оказывает влияния на прорастание спор, и лишь яркое освещение прямыми солнечными лучами подавляет прорастание. Кислотность среды и вообще состав ее относятся к числу факторов, имеющих большое значение для прорастания спор. При этом для одних грибов пределы кислотности являются узкими, например, у возбудителя кильи капусты (*Plasmodiophora brassicae* Woron.) оптимальная кислотность pH — 1,5, а колебание в пределах pH 5,4-7,3; для большей части других грибов характерна широкая зона кислотности. Например, возбудитель серой плесени (*Botrytis cinerea* Pers.) развивается в пределах pH от 2,1 до 6,9. Рассмотренные факторы внешней среды, способствующие прорастанию спор, оказывают большое влияние на скорость их прорастания. Время, необходимое для прорастания, колеблется в зависимости от типа спор и условий внешней среды. При оптимальных условиях для прорастания спор некоторых грибов требуется следующий срок: для *Mternaria* — 40 мин, для *Albugo* — 40 мин, уредоспоры и тлейтоспоры *Puccinia graminis* Pers. соответственно 1 ч и 6—8 ч, хламидоспоры *Ustilago hordei* Bref. за 6 ч, *Ustilago tritici* Jens, за 14 ч, *Urocystis occulta* Rabh. за 40 ч.

Скорость прорастания спор имеет большое значение для заражения растения, так как поверхность растений может недолго оставаться восприимчивой для прорастания и проникновения паразита в растение-хозяина. Более того, отдельные части растения могут сохранять свою восприимчивость лишь в течение короткого промежутка времени. Возбудитель пыльной головни пшеницы проникает в молодые завязи и период восприимчивости составляет всего лишь несколько дней. Тоже у твердой головни пшеницы, заражающей молодые проростки. Поэтому температура и некоторые другие факторы, ускоряющие прорастание спор и замедляющие рост проростков хозяина, обычно благоприятствуют обильному заражению.

1. 8 Лекция №8 (2 часа).

Тема: «Вторичный метаболизм грибов»

1.8.1 Вопросы лекции:

1. Связь первичного и вторичного метаболизма.
2. Основные пути биосинтеза и обмена вторичных метаболитов у грибов.
3. Антибиотики грибов.

4. Токсины грибов.

1.8.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1

Под метаболизмом, или обменом веществ, понимают совокупность химических реакций в организме, обеспечивающих его веществами для построения тела и энергией для поддержания жизнедеятельности. Часть реакций оказывается сходной для всех живых организмов (образование и расщепление нуклеиновых кислот, белков и пептидов, а также большинства углеводов, некоторых карбоновых кислот и т.д.) и получила название первичного метаболизма, или первичного обмена. Он включает:

- углеводный обмен играет важную роль в жизнедеятельности грибов.

Моносахариды и другие низкомолекулярные соединения углерода являются важнейшей и легко усвояемой пищей грибов. Грибы быстрее, чем другие микроорганизмы, поглощают и ассимилируют различные углеводы.

-аминокислотный обмен. Грибы синтезируют аминокислоты из простых соединений углерода и азота. Аминокислоты используются ими для синтеза белков, витаминов (например, пантотеновой кислоты), нуклеотидов и алкалоидов, получения других аминокислот и энергии.

- витамины (грибы нуждаются в поступлении витаминов извне (ауксотрофность), но и сами способны синтезировать некоторые витамины (прототрофность), не нуждаются в жирорастворимых витаминах и аскорбиновой кислоте);

-микроэлементы (грибам, как и прочим микроорганизмам, необходимы очень малые количества некоторых неорганических компонентов питательной среды.

Важнейшие из них – ионы тяжелых металлов. Недостаток микроэлементов ограничивает рост и активность грибов, а их высокие концентрации часто токсичны

Помимо реакций первичного обмена существует значительное число метаболических путей, приводящих к образованию соединений, свойственных лишь определённым, иногда очень немногим, группам организмов. Эти реакции, согласно И. Чапеку (1921) и К. Пэху (1940), объединяются термином вторичный метаболизм, или вторичный обмен, а продукты называются продуктами вторичного метаболизма, или вторичными соединениями. Различия между первичным и вторичным метаболизмом не очень резки. Вторичный метаболизм грибов - характерен для репродуктивной фазы развития грибов. Он отражает индивидуальные особенности грибного таксона. Образующиеся в процессе вторичного метаболизма продукты специфичны для продуцирующего их штамма, вида или рода гриба; они могут вызывать дифференцировку таллома. Различные вторичные метаболиты (антибиотики, микотоксины) могут действовать на другие организмы.

2. Наименование вопроса №2

Многие вторичные метаболиты имеют химическую структуру, необычную для биологической материи. Эти соединения относятся к разнообразным классам органических веществ, – аминоциклические, кумарины, эпоксиды, пирролы, нерибосомальные пептиды, полиены, терпеноиды, тетрациклины, поликетиды, изопреноиды, стероиды, гиббереллины, фитоалексины и т.д. В отличие от синтеза первичного метаболита, который происходит одновременно с ростом и размножением культуры, для продуцента вторичных метаболитов принято говорить о трофофазе (когда культура растет и размножается) и идиофазе (когда рост замедляется или останавливается и начинается синтез продукта). О механизмах переключения путей метаболизма с первичного на вторичный и о физиологической роли вторичных метаболитов в жизни собственного продуцента достоверно известно очень мало. Известны четыре класса биосинтетических реакций, «уводящих» интермедиат (от латинского *intermedius* – средний – промежуточное вещество с коротким временем жизни, образующееся в ходе

химической реакции и затем реагирующие далее до продуктов реакции) на путь вторичного метаболизма:

- 1) преобразование первичного метаболита в специфический предшественник для вторичного метаболизма;
- 2) реакции модификации или активации, уводящие предшественник на путь вторичного метаболизма;
- 3) полимеризация и конденсация;
- 4) поздние реакции модификации.

К вторичным метаболитам относятся половые гормоны, микоспорины, пигменты, антибиотики, микотоксины.

3. Наименование вопроса №3

Антибиотики. Образование антибиотиков имеет эволюционно приспособительный характер. Большинство антибиотиков, образуемых грибами, являются вторичными продуктами метаболизма, которые активно не участвуют в процессах конструктивного и энергетического обмена. Антибиотикообразующая способность большинства природных штаммов плесневых грибов обычно низкая, и только штаммы, полученные путем селекции, обладают высокой антибиотической активностью. Из грибов разных систематических групп выделено свыше 100 антибиотиков. Однако только немногие нашли практическое применение и изучены более детально. К ним относятся пенициллины, гризофульвин, фумагиллин и некоторые др. Современная медицина и ветеринария используют антибиотики для лечения некоторых заболеваний человека и животных. Антибиотики находят применение и как стимуляторы роста сельскохозяйственных животных и птиц.

4. Наименование вопроса №4

Микотоксины - это ядовитые вещества, вырабатываемые плесневыми грибками в определённых условиях. Они направлены на подавление деятельности других форм микроскопической жизни, но для самого грибка не опасны. Заболевания, вызванные ими, известны давно. Ещё более 150 лет назад в России была описана болезнь Каши-Бека, вызываемая продуктами жизнедеятельности грибов рода Фузариум. Но большой масштаб проблемы микотоксинов приобрела относительно недавно. Учёные связывают это с интенсификацией земледелия и повсеместным применением пестицидов, которые нарушают естественный природный баланс. По данным ВОЗ, поражённость зерновых культур микотоксинами в мире достигает 25% от всего сырья, закладываемого на хранение. Основными продуцентами микотоксинов являются грибы трёх родов: Аспергillus; Пенициллиум; Фузариум.

В настоящее время известно более 400 видов микотоксинов. Их вырабатывают грибы 250 видов. Причём разная плесень может вырабатывать одинаковый токсин, — это зависит от условий. Классификация усложняется ещё и тем, что грибок продуцирует сразу несколько видов токсинов.

Микотоксикозы классифицируют по виду токсина, по роду грибка-продуцента или по оказываемому на организм воздействию. Более широко применяется разделение микотоксикозов по виду токсина. Практическое значение имеют порядка 20 групп.

1. 9 Лекция №9 (2 часа).

Тема: «Принципы микологической систематики и номенклатуры»

1.9.1 Вопросы лекции:

1. Принципы микологической систематики.
2. Общая характеристика отделов и классов грибов:

1.9.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1

Систематика грибов - это раздел в микологии, занимающийся естественной классификацией грибов. Принципы систематики в микологии основываются на общих принципах биологической классификации. По своему положению грибы - (лат. Fungi или Mycota) занимают особое место в живой природе и их выделяют в отдельное, самостоятельное царство живых организмов. И если термин Fungi - это и есть международное название царства грибов, то Mycota - это больше научный термин, который встречается в биологии, биохимии, микологии и фармацевтике. Главные таксономические признаки, которые используются в систематике грибов, как и других групп живых организмов, - морфологические. Это признаки строения, в том числе ультраструктура, изучаемая только с использованием электронного микроскопа. Но комплекс таких признаков у многих групп грибов зачастую небольшой, и они могут быть похожи у неродственных групп, произрастающих в одинаковых условиях внешней среды. Поэтому в последнее время в систематике грибов используются и другие комплексы признаков – биохимические (тип метаболизма, образование определенных продуктов обмена, т.д.), экологические, генетические, т.д. Огромное значение в последние годы придают такому признаку, как строение нуклеиновых кислот, в частности ДНК, то есть структуре генетического материала.

В настоящее время для полного описания места гриба в живой природе используются следующие систематические категории: Царство -» Подцарство -» Отдел -» Подотдел -» Класс -» Подкласс -» Порядок -» Подпорядок -» Семейство -» Подсемейство -» Род -» Подрод -» Секция -» Подсекция -» Ряд(Серия) -» Подряд(Подсерия) -» Вид -» Подвид -» Разновидность -» Подразновидность -» Форма -» Подформа.

Общепринятой классификации до настоящего времени не существует. Используется несколько классификаций.

Царство грибов делится на два отдела:

1. Оомикота.
2. Эумикота (настоящие грибы).

Классы разграничиваются на основании типа органов размножения и ряда признаков строения вегетативного тела грибов. К отделу оомикота принадлежат только два класса (оомицеты и гифохитриомицеты). Они отличаются числом жгутиков и составом клеточных оболочек. Подавляющее большинство грибов (96%) относится к отделу Эумикота, в котором различают пять классов (хитридиомицеты, зигомицеты, аскомицеты, базидиомицеты, дейтеромицеты). Так называемые макромицеты – грибы с плодовыми телами крупных размеров, хорошо различимыми без микроскопа – это представители двух классов грибов – базидиомицетов и аскомицетов.

Отдел	Класс	Особенности строения	Особенности жизнедеятельности	Представители
Настоящие грибы	Хитридиомицеты	Микроскопические и одноклеточные формы, образующие цитоплазматическую массу	Паразиты водорослей, водных грибов и растений, беспозвоночных животных	Ольпидиум
	Зигомицеты	Одноклеточные	Наземные, разлагающие органику, встречаются паразиты	Мукор
	Аскомицеты	Многоклеточные формы, споры которых содержатся в специальных сумках	Разлагают органику, встречаются паразиты	Дрожжи, спорылья, сморчки, строчки
	Базидиомицеты	Мицелий многоклеточный. Органы спороношения – базидии	Разлагают органику. Часть тела может находиться на поверхности, часть погружена в почву	Шляпочные грибы, трутовики
	Дейтеромицеты	Мицелий состоит из многоядерных клеток. Бесполое размножение	Разлагают органику, встречаются паразиты	Пеницилл

В другой классификации все относящиеся к грибам организмы, в наше время разделены на 3-и самостоятельных эволюционных стволов (или *группы*), которые распределены в 3-и отдельных царства живой природы, это:

- настоящие грибы (лат. *Fungi*);
- псевдогрибы (лат. *Protozoa*);
- простейшие (лат. *Chromista*).

В царство *Fungi* (настоящие грибы) были включены:

- отдел «*Ascomycota* (сумчатые грибы)»;
- отдел «*Basidiomycota* (базидиальные грибы)»;
- отдел «*Chytridiomycota*»;
- отдел «*Glomeromycota*»;
- отдел «*Zygomycota*»;
- отдел «Группа анаморфные грибы, дейторомицеты, несовершенные грибы, митогрибы»;
- отдел «Лишайники, или лихенизированные грибы».

В царство *Protozoa* (псевдогрибы или грибоподобные организмы) включены отделы: *Acrasiomycota*; *Dictyosteliomycota*; *Мухомицеты*; *Plasmodiophoromycota*.

В царство *Chromista* (простейшие) были включены отделы: *Hypochytridiomycota*; *Labyrinthulomycota*; *Oomycota*.

**Отделы и классы грибов и грибоподобных организмов
(по: Гарбова, Лекомцева, 2005)**

Отдел	Класс
Царство Protozoa	
<i>Мухомицеты</i>	<i>Ceratiomyxomycetes</i> <i>Мухомицеты</i> <i>Protosteliomycetes</i>
<i>Plasmodiophoromycota</i>	<i>Plasmodiophoromycetes</i>
<i>Dictyosteliomycota</i>	<i>Dictyosteliomycetes</i>
<i>Acrasiomycota</i>	<i>Acrasiomycetes</i>
Царство Chromista	
<i>Labyrinthulomycota</i>	<i>Labyrinthulomycetes</i>
<i>Hypochytridiomycota</i>	<i>Hypochytridiomycetes</i>
<i>Oomycota</i>	<i>Oomycetes</i>
Царство Fungi (Мукомицеты, Мукомицеты)	
<i>Chytridiomycota</i>	<i>Chytridiomycetes</i>
<i>Zygomycota</i>	<i>Zygomycetes</i> <i>Trichomycetes</i>
<i>Ascomycota</i>	<i>Archeascomycetes</i> <i>Hemiascomycetes</i> <i>Ascomycetes</i> <i>Loculoascomycetes</i>
<i>Basidiomycota</i>	<i>Basidiomycetes</i> <i>Urediniomycetes</i> <i>Ustilaginomycetes</i>
<i>Deuteromycota</i>	<i>Hypomycetes</i> <i>Coelomycetes</i> <i>Agonomycetes</i>
Лишайники, или лихенизированные грибы (<i>Lichenes</i>)	<i>Ascolichenes</i> <i>Basidiolichenes</i>

2. Наименование вопроса №2.

Отдел базидиомицетов (лат. *Basidiomycota*) — включает виды, производящие споры в булавовидных структурах, именуемых базидиями. Вместе с аскомицетами составляют подцарство высших грибов (*Dikarya*). К базидиальным грибам относится примерно 30% всех видов грибов

Вегетативное тело представлено септированным мицелием с пряжками или без них, возможен дрожжеподобный рост. Клеточная стенка многослойная, состоит из хитина и глюканов. В дрожжеподобной стадии клеточная стенка содержит маннаны. Септы имеют сложное строение, присутствуют долипоровые септы. Вегетативное размножение происходит фрагментацией таллома, а также, возможно, специализированными формами мицелия. Бесполое размножение менее выражено.

Образование базидий. По развитию базидии гомологичны сумке, и процесс их формирования имеет много общих черт. Существует несколько вариантов образования базидий.

В цикле развития базидиальных грибов преобладает обычно дикариотичная стадия ($n + n$). В отличие от сумчатых грибов, дикариотичный мицелий питается самостоятельно, может быть многолетним. На нем могут образоваться различные плодовые тела (базидиомы) или они отсутствуют. Гаплоидная и диплоидная стадии кратковременны у большинства представителей отдела. У некоторых видов гаплоидная стадия имеет дрожжеподобный рост. Трофическая потребность гаплоидной и диплоидной стадии паразитических грибов различна, что приводит к поражению разных видов растений. От сумчатых грибов, имеющих три типа плодовых тел, базидиальные грибы отличаются значительным их разнообразием (подробное описание базидиом будет дано при характеристике соответствующих групп грибов). К отделу относятся сапротрофные, паразитические, симбиотрофные грибы.

Аскомицеты или сумчатые грибы (лат. Ascomycota) — отдел в царстве грибов, объединяющий организмы с септированным (разделённым на части) мицелием и специфическими органами полового спороношения — сумками (асками), содержащими чаще всего по 8 аскоспор. Имеют и бесполое спороношение, причём во многих случаях половой процесс утрачивается, и такие виды грибов относят к несовершенным грибам.

Дейтеромицеты (лат. Deuteromycota), или Несовершенные грибы (лат. Fungi imperfecti) — нетаксономическая группа грибов, ранее считавшаяся отделом. Их тело состоит из расчленённых прозрачных или окрашенных многоклеточных гиф и иногда из почкующихся клеток. Размножаются исключительно бесполым путём, при котором образование конидий происходит на изолированных или расположенных группами конидиеносцах или специальных образованиях, называемых пикнидами.

Хитридиомицеты (лат. Chytridiomycota) — отдел царства грибов (Fungi). Объединяет более 120 родов и около 1000 видов. Мицелий слаборазвит, основная масса таллома представляет собой т. н. плазменное тело, из которого вырастают ризоидные гифы. Самые примитивные представители совершенно не имеют мицелия, и тело их в вегетативном состоянии представлено одиночной клеткой, иногда лишённой жёсткой клеточной стенки. Основа клеточной стенки хитиново-глюкановая, как и у высших грибов. Представители отдела тесно связаны с водной средой (морской и пресноводной), где паразитируют на водорослях и беспозвоночных. Могут вызывать массовую гибель водных организмов вплоть до амфибий. Могут развиваться во влажных почвах и вызывать болезни высших растений, меньшее количество представителей — сапротрофы на субстратах, содержащих хитин, целлюлозу и кератин.

Гломеромицеты (лат. Glomeromycota) — отдел грибов с единственным классом Glomeromycetes. В классе описано около 200 видов. Класс Glomeromycetes (гломеромицеты). Объединяет облигатные микоризные грибы, имеющие большое значение как эндосимбионты. Эндомикориза развита у 80% травянистых растений, а также возможна у некоторых деревьев и кустарников во взрослом состоянии и на ранних этапах развития из семени. Гифы грибов находятся в коре корня, идут по межклетникам и образуют терминальные или интеркалярные вздутия — везикулы. Гифы могут дихотомически ветвиться с образованием арбускул. Такая микориза называется арбускулярно-везикулярной. В результате лизиса гриба в клетках растений остается зернистая масса. Покоящиеся споры имеют сложное строение оболочки, состоящей из 6 слоев и содержащей хитин и целлюлозу. Споры располагаются чаще на поверхности корней растений одиночно или группами.

Отдел лишайники, лихенизированные грибы (lichens, mycophycophyta). микобионты

Вегетативное тело образуют две группы организмов: микобионт (грибы) и фотобионт (зеленые водоросли — Chlorophyta, желтозеленые — Xanthophyta, бурые — Phaeophyta, синезеленые прокариоты — Cyanophyta). Типы слоевищ — гомеомерное (с равномерным распределением клеток фотобионта) и гетеромерное (фотобионт внутри слоевища располагается слоем). По форме различают накипные, или корковые, слоевища, листоватые и кустистые. Размножение спорами (от одноклеточных до различно септированных), которые образует микобионт, половым или бесполым путем либо вегетативно фрагментами слоевища, соредиями и изидиями. Морфологические структуры половых спороноже-ний — многолетние апотеции, перитеции, гистеротеции. В них закладываются архикарпы, продукцируются аскогенные гифы и формируется гимениальный слой. Он имеет специальные защитные структуры, такие как слоевищный край, гипотеций. Выделяют три типа апоте-циев — леканоровый, лицидиевый, биаторовый. Малочисленную группу лихенизирован-ных грибов образуют базидиальные макромицеты, представляющие интерес с точки зрения эволюции этой группы грибов. Они являются пионерными видами, заселяют субстраты и местообитания, малопригодные для растительных организмов. По отношению к субстрату выделяют следующие группы лихенизированных грибов: эпилитные, эпифитные, эпи-ксильные, эпифильные, эпифриофитные. Во многих природных экосистемах они образуют стабильные группировки, например эпифитные группировки бородатых лишайников в темнохвойных лесах.

Лишайники — уникальные организмы живой природы, тело которых образовано грибами и водорослями. Раньше их причисляли к царству растений, называя мхами, водорослями, а то и вообще считали хаосом природы. Позднее лишайники стали рассматривать в царстве грибы в качестве самостоятельного отдела. Но так как в состав лишайников входят грибы из разных отделов и групп (Ascomycota 98%, Basidiomycota 2%, аноморфные грибы), то лишайники в системах последних лет разделили на несколько порядков, входящих в соответствующие классы и отделы. Поскольку систематика лишайников претерпевает существенные изменения, то для удобства изучения рассматриваются их как сборная группа царства грибы, насчитывающая в настоящее время около 20 тыс. видов.

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ (не предусмотрено РУП)

3. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

3.1 Практическое занятие №1 (2 часа).

Тема: «Вводное занятие»

3.1.1 Задание для работы:

1. Познакомится с устройством микологической лаборатории.
2. Познакомится с техникой безопасности при работе с грибами.

3.1.2 Краткое описание проводимого занятия:

Устройство и режим работы микологической лаборатории - должны обеспечивать предупреждение рассеивания патологического материала в окружающей среде, чтобы избежать заражения, аллергизации и распространения инфекции среди сотрудников и больных.

Лаборатория должна иметь определенный набор помещений, включая комнату (или специально оборудованное место) для приема и регистрации анализов, бокс-посевную для посева и работы с культурами, комнату с автоклавами для стерилизации и уничтожения патологического материала и культур, моечную, препараторскую, кладовую, гардероб для одежды, туалет. Пол и стены помещений, где проводится лабораторная диагностика микозов, должен выдерживать мытье дезинфицирующими растворами. Лаборатория укомплектовывается легко подвергающейся дезинфекции мебелью, включая шкафы для чистой лабораторной посуды, реактивов, питательных сред; соответствующим оборудованием и инструментами. Для работы необходимы спиртовка или газовая горелка, микробиологические петли, микологические лопаточки, шпатели, эпилляционные ланцеты, маникюрные кусачки, скальпели, ножницы, ложечки Фолькмана, пипетки разные, пастеровские пипетки, иглы препаровальные, стеклянные палочки, шприцы, низкоскоростная центрифуга, аппарат для встряхивания, чашки Петри, пробирки, стеклянная посуда, ультрафиолетовая лампа Вуда с фильтром, микроскопы, осветители, термостаты, автоклавы, холодильники, сухожаровые шкафы, бактерицидные лампы.

Для работы с патологическим материалом и культурами грибов лабораторные столы следует покрывать стеклами с частично окрашенной в черный цвет обратной стороной: на черном фоне лучше видны обычно светлые культуры грибов, а также мелкие частицы исследуемого материала. Часть стекла окрашивается в белый цвет, так как на белом фоне хорошо видны оттенки пигмента у исследуемых колоний. Иногда для этих целей под стекла подкладывают листы черной и белой бумаги.

Воздух в лаборатории должен стерилизовать дезинфицирующими аэрозолями или ультрафиолетовыми лучами. Водопровод и система подачи газа должны быть всегда исправны.

Необходимо достаточное количество дезинфицирующих средств. Пол, рабочие столы в помещениях, где производится работа с патологическим материалом, ежедневно убираются влажным способом с применением дезинфицирующих средств (5% раствор хлорамина, 5% осветленная хлорная известь). Термостаты еженедельно протирают 0,5% хлорамина; стены обрабатывают дезрастворами 1 раз в месяц. Стерилизацию посуды и инструментов горячим воздухом в сухожаровых шкафах производят при 180 °C в течение 60 мин. Необходимо помнить, что любой изучаемый материал потенциально опасен. Поэтому взятие патологического материала следует производить в специальной комнате с помощью инструментария, в халатах и масках. Патологический материал или культуру переносят в специальной таре (металлические или пластмассовые ящики с крышками, биксы), которую внутри и снаружи ежедневно обрабатывают дезинфицирующими растворами.

Все посевы производят вблизи огня спиртовки или газовой горелки с обжиганием инструмента и краев пробирки. Засеянные пробирки и другие емкости должны иметь четкие надписи с указанием даты посева, номера анализа, вида и штамма возбудителя.

Загрязненные пипетки, шпатели, предметные и покровные стекла обеззараживают погружением в 5% раствор фенола, 5% раствор лизола на 30 мин или в 5% раствор хлорамина, 5% раствор осветленной хлорной извести на 2 - 3 ч, затем моют.

Патологический материал (кусочки тканей, чешуйки кожи, ногтей) и отработанные культуры грибов автоклавируют при 2 атм / 132 / 20 мин, при 1,5 атм / 126 / 30 мин; либо кипятят 1 ч в воде или 30 мин в 1% мыльно-содовом растворе.

3.1.3 Результаты и выводы:

Устройство лаборатории и технику безопасности записать в рабочих тетрадях.

3.2 Практическое занятие №2 (2 часа).

Тема: «Отбор материала для микологического исследования».

3.2.1 Задание для работы:

1. Провести отбор материала, пораженного грибами с целью посева и выделения чистых культур.

3.1.2 Краткое описание проводимого занятия:

Отбор средних проб кормов проводят в соответствии с действующими

Государственными стандартами. Отобранную среднюю пробу разделяют на две части массой не менее 1 кг каждая, упаковывают в чистые сухие банки или хлопчатобумажные мешки и опечатывают. Одну часть пробы направляют для исследований с актом комиссионного отбора и сопроводительным документом, вторую часть пробы хранят в хозяйстве в течение одного месяца в условиях, предотвращающих порчу или вторичное загрязнение.

3.2.3 Результаты и выводы:

Отобранный материал правильно упаковать и написать сопроводительный документ.

3.3 Практическое занятие №3 (2 часа).

Тема: «Питательные среды для культивирования грибов. Приготовление сред».

3.3.1 Задание для работы:

1. Рассмотреть разнообразие питательных сред для культивирования грибов.
2. Приготовить и пристерилизовать питательную среду.

3.3.2 Краткое описание проводимого занятия:

Микологический посев существенно отличается от бактериологического – как методически, так и по питательным средам. Бактериологические среды для выделения грибов не подходят. Существует распространенное мнение, что все грибы растут на среде Сабуро. Действительно, большинство грибов способно к росту на этой среде, однако выделить культуру – еще не значит выделить возбудителя. Кожный покров животных контаминирован большим количеством спор микроорганизмов, в т.ч. безвредных грибов-сапротрофов. В микологических лабораториях наряду со средой общего назначения (Сабуро, сусло-агар) используют еще ряд селективных питательных сред различного назначения: для ингибирования бактериальной флоры и выделения дрожжей и плесеней, для выделения грибов-дерматофитов, для выделения липофильных грибов, для выделения актиномицетов и т.д. Только таким образом можно получить достоверное представление о «микологическом пейзаже» в очаге патологического процесса.

Лучший рост грибов отмечен на средах с содержанием углеводов 1...4%. При первичной изоляции для подавления роста различных сопутствующих бактерий в питательные среды часто добавляют антибиотики.

Агар Сабуро применяют для культивирования возбудителей дерматомикозов и кандидамика. Глюкоза -4 г, пептон - 1 г, агар - 1,8 г, дистиллированная вода - 100 мл. После растворения агара среду фильтруют, разливают по пробиркам и стерилизуют при 0,5 атм 30 мин. После стерилизации pH среды 6,9...7,0.

Агар Чапека используют для культивирования грибов многих видов. Глюкоза - 30 г, нитрат натрия - 2 г, дигидрофосфат калия - 1, сульфат магния - 0,5 г, хлорид калия -

0,5 г, сульфат железа - 0,0012 г, агар - 20 г, дистиллированная вода - 1000 мл. Естественный pH среды 5,6...5,9. Среду стерилизуют при 0,5 атм 30 мин.

Сусло-агар предназначен для культивирования возбудителей дерматомикозов и кандидамика. Солодовое неохмеленное сусло разбавляют водопроводной водой в соотношении 1: 2 (до содержания Сахаров 7 %), устанавливают pH 6,5...6,7, добавляют 2 % агара, кипятят, фильтруют, стерилизуют при 0,5 атм 30 мин.

Агар Литмана пригоден для культивирования дерматофитов. Пептон - 10 г, глюкоза - 10 г, бычья желчь - 15 г, кристаллвиолет - 0,01 г, агар - 20 г, дистиллированная вода - 1000 мл. Среду стерилизуют при 1 атм 15 мин.

Среда Ван-Итерсона предназначена для выделения из кормов токсичных грибов, вызывающих стахиботриотоксикоз, дендродохиотоксикоз и др. Нитрат аммония — 0,5 г, дигидрофосфат калия - 0,5 г, водопроводная вода - 1000 мл. Среду стерилизуют при 1 атм 30 мин. Затем средой увлажняют стерильные чашки Петри с фильтровальной бумагой.

Жидкая среда Чапека. Глюкоза - 30 г, нитрат натрия - 2 г, дигидрофосфат калия - 1 г, сульфат магния - 0,5 г, хлорид калия - 0,5 г, сульфат железа - 0,001 г, дистиллированная вода - 1000 мл. Среду стерилизуют при 0,5 атм 30 мин. После стерилизации pH среды 5,9...6,2. Жидкую среду можно использовать для увлажнения фильтровальной бумаги в чашках Петри с целью последующего культивирования грибов.

Среда Билай предназначена для получения макроконидий грибов. Нитрат калия — 2 г, дигидрофосфат калия - 1 г, сульфат магния - 0,5 г, хлорид калия - 0,5 г, сульфат железа - следы, крахмал растворимый - 0,1 г, сахараоза - 0,1 г, глюкоза - 0,1 г, дистиллированная вода — 1000 мл. Среду разливают по пробиркам по 5 мл и в каждую пробирку вставляют полоску фильтровальной бумаги таким образом, чтобы большая часть ее находилась над раствором. Среду стерилизуют при 1 атм 20 мин.

Глюкозный бульон Сабуро используют для культивирования грибов многих видов. Глюкоза - 40 г, пептон - 10 г, дистиллированная вода - 1000 мл. Нагревают до кипения, разливают по пробиркам и стерилизуют при 1 атм 15 мин.

Культивирование на волосах по Ван-брейзегему применяют при выделении дерматофитов. Здоровые стерильные волосы прикрепляют коллондием к стеклянной трубочке. На середину волос наносят культуру гриба. Трубочку помещают в цилиндр, на дно которого для влажности наливают небольшое количество воды. Культивируют при 25 °С пять—девять дней и более.

3.3.3 Результаты и выводы:

1. Проработать материал по питательным средам, проанализировать его и заполнить таблицу.
2. Приготовить агар Сабуро и проавтоклавировать его.

3.4 Практическое занятие №4 (2 часа).

Тема: «Техника посева и культивирование грибов. Приготовление микроскопических препаратов».

3.4.1 Задание для работы:

1. Освоить технику посева и культивирование грибов.
2. Овладеть методикой приготовления микроскопических препаратов.

2.4.2 Краткое описание проводимого занятия:

Методы посева грибов на питательные среды, производимые с помощью микробиологической петли или иглы. Последние до и после употребления прокаливаются

на пламени спиртовки. Прокаливается не только игла, но та часть стеклянной трубочки, которая после посева вводится в сосуд. Затем производится посев колонии гриба, уже заранее выделенной и находящейся в другой пробирке. Берут в левую руку две пробирки (одну с колонией, другую — с питательной средой), иглу же, тщательно прокаленную, держат в правой руке. Пробирки слегка прогревают на спиртовке в месте соединения пробирки со стеклом; затем мизинцем правой руки, держа пробку из пробирки с культурой гриба, а левой вращая пробирку, её открывают. После того, как пробка открыта, её прогревают на спиртовке; наконец, плавным движением вводят иглу внутрь пробирки, берут часть инфекционного начала и быстро переносят в засеваемую пробирку. Если оно в виде гиф воздушного мицелия, отрывают несколько гиф, для точности иногда с помощью лупы, подставленной к пробирке. Если же хотят перенести часть погруженного мицелия, берут часть его с субстратом и переносят в засеваемую пробирку. Если слой среды очень крепкий, пользуются иглои-лопаткой. При посеве пробирку держат наклонённой вниз, чтобы споры из воздуха не загрязнили посева. Сам посев производится уколом в среду, штрихом, оставлением кусочка грибницы или спор в верхней части среды; последнее лучше, так как в первом случае грибница начинает расти внутри укола и портит вид пробирки с обратной стороны. Если пересев производится из твёрдых сред в жидкие, то берут часть грибной колонии и переносят её в жидкую среду, стараясь не погружать грибницы в жидкость, а оставляя её на жидкости. Если пересев производится из жидких сред в твёрдые или жидкие, то осторожным прикосновением к колонии переносят споры в твёрдую или жидкую среду, или же посев производится с помощью пипетки Пастера. После стерилизации пипетки перед посевом конец её обламывается стерильным пинцетом, часть инфекционного начала всасывается внутрь пипетки, а потом выдувается или в жидкую среду или на твёрдую среду. Минуты через две жидкость сливают, предполагая, что разболтанные споры остались на твёрдой среде. Иногда споры, разболтанные в пробирке с водой, просто выливаются на твёрдую среду, а затем сливаются с неё. Можно также споры на кончике иглы прямо переносить из жидкой среды на твёрдую. После пересева перед закрытием пробки её прожигают на горелке с обратной стороны, но очень осторожно, чтобы обуглившаяся вата не упала на среду и не загрязнила её. После пересева на пробирке пишут название гриба, число, месяц и год пересева и порядковый номер, указывающий на количество пересевов.

Схема посевов на питательные среды

1. Пересев из твёрдых сред в твёрдые:
 - а) уколом,
 - б) штрихом,
 - в) оставлением кусочка грибницы или спор на поверхности среды.
2. Из твёрдых в жидкие: сбрасывание в жидкость кусочка грибницы или спор.
3. Из жидких в жидкие:
 - а) выдувание из пипетки набранной жидкости в жидкую среду;
 - б) перенос спор из жидкой среды в жидкую.
4. Из жидких в твёрдые:
 - а) выдувание из пипетки набранной жидкости в твёрдую среду и слияние её оттуда;
 - б) выливание из пробирки разболтанных в воде спор на твёрдую среду и слияние воды обратно;
 - в) перенос спор на кончике иглы из жидкой среды на твёрдую.

Приготовление препаратов. Для микроскопирования дрожжей наносят на чистое предметное стекло каплю исследуемой культуры и покровным стеклом размазывают каплю по поверхности предметного стекла. Затем покровное стекло опускают на смоченную поверхность предметного стекла, избытки жидкости удаляют с помощью фильтровальной бумаги. Для микроскопирования микроскопических грибов кусочек

грибницы переносят в каплю воды, нанесенную на предметное стекло. Сверху накрывают покровным стеклом. Избыток жидкости убирают кусочками фильтровальной бумаги.

Описание микропрепаратов. Рассмотреть под микроскопом и зарисовать: форму и расположение клеток дрожжей, строение грибницы и органов размножения микроскопических грибов. Выявить различия и сходства в строении клетки дрожжей и микроскопических грибов.

3.4.3 Результаты и выводы

Описать способ посева грибов на питательную среду, записать способы приготовления микропрепаратов дрожжей и плесени, описать микропрепараты.

3.5 Практическое занятие №5 (2 часа).

Тема: «Изучение морфологии плесневых грибов. Идентификация плесневых грибов».

3.5.1 Задание для работы:

1. Изучить морфологию плесневых грибов.
2. Идентифицировать плесневые грибы.

2.5.2 Краткое описание проводимого занятия

При изучении морфологии плесневых грибов на предметное стекло необходимо нанести каплю воды и из культуры двумя препаровальными иглами (иглы, закрепленные в деревянные палочки) внести небольшой кусочек мицелия гриба. Его осторожно расщепляют на стекле, не разрушая гифов, спорангииносцев, конидиеносцев, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом.

Мукор (головчатая плесень). Одноклеточный плесневый гриб. Спорангии расположены одиночно, реже кустиками. Мицелий пушистый, в верхней части образует множество черных головок. Споры серые, округлой или овальной формы, при микроскопировании просвечиваются.

Пенициллиум. Плесневый гриб, конидиеносцы имеют перегородки, разветвленные в виде кисточек, на концах ветвей расположены стеригмы, а на них округлые, гладкие споры в виде цепочек (конидии). Мицелий низкий, врастает в питательную среду. Колонии плесени окрашены в зеленый цвет.

Аспергиллюс. Плесневый гриб, конидиеносец одноклеточный без перегородок. Стеригмы располагаются на булавовидном утолщении конидиеносца. От стеригм отходят по радиусам споры (конидии) округлой формы черного цвета.

Молочная плесень. Мицелий белого цвета с перегородками. Конечные нити мицелия распадаются, образуя споры круглой, овальной и прямоугольной форм (оидии).

3.5.3 Результаты и выводы:

Изучить под микроскопом приготовленные микропрепараты из микроскопических грибов, сделать выводы о родовой принадлежности. Зарисовать увиденную картину.

3.6-7 Практическое занятие № 6-7 (2 часа).

Тема: «Биология дрожжей».

2.6-7.1 Задание для работы:

1. Осуществить посев пивных, пекарских дрожжей, кандид на питательные среды.
2. Изучить характер роста дрожжей, зарисовать.

3.6-7.2 Краткое описание проводимого занятия:

Общий принцип посевов заключается в том, что образец превращают в такое состояние, когда он может быть серийно разведен, чтобы сделать из него высев или сразу в чашки, или перевести клетки сначала на мембранные фильтры.

В качестве супензионных жидкостей используют стерильную водопроводную воду, в которую иногда добавляют поверхностно-активные вещества (например, Твин-80, 1 капля на 0,5 л), 0,5%-ный раствор NaCl в дистиллированной воде (при выделении психрофильных дрожжей). Высев на плотные питательные среды из подготовленной супензии делают пипеткой, внося в каждую чашку по 0,5 мл или по одной капле измеренного объема. Чашек берут всегда не менее трех для каждого разведения, чтобы получить среднее число колоний на одной чашке.

После посева чашки инкубируют 24 ч в обычном положении, чтобы агар адсорбировал жидкость, а за тем переворачивают во избежание попадания на поверхность капель конденсата с крышки. При инкубировании посевов большое значение имеет поддержание определенной температуры. Преобладающее число видов дрожжей относится к группе мезофильных микроорганизмов с температурными границами роста от 2 – 5 до 30 – 37°C и оптимумом при 26 – 28°C. Среди дрожжей нет истинных термофилов, для роста которых требуются температуры выше 50°C. При выращивании дрожжей при температуре 40 – 45°C необходимо добавлять в среду олеиновую кислоту. Подбор температурных условий при выделении дрожжей зависит от источника выделения и целей исследования. Из теплокровных животных и из различных органов человека и связанных с ним субстратов дрожжи выделяют при 37°C, если хотят найти патогенные формы, и при 28°C в случае поиска сапрофитных видов. Если дрожжи растут при 37°C, то требуется соблюдать осторожность, так как среди них могут быть патогенные – *Cryptococcus neoformans* или *Candida albicans* (= *Syringospora albicans*). Посевы из материала, где предполагается наличие психрофильных дрожжей, инкубируют в холодильнике при температуре 4 – 5°C. Сроки инкубирования непосредственно зависят от температуры. При 37°C инкубируют не более 4, а в холодильнике не менее 14 сут. Если дрожжи дают визуально заметный рост при 4 – 5°C в течение 7 – 10 дней, то их относят к истинным психрофилам при условии, что выше 20°C они не растут. Температурный оптимум таких дрожжей находится обычно в диапазоне от 10 до 15°C. Психротолерантные дрожжи вырастают при 5°C в течение 2 – 3 недель, а психрофобные при температуре ниже 30°C не растут совсем. В посевах из почвы, инкубируемых при низких температурах, удается учесть в 2 – 3 раза больше дрожжей, чем при 28°C, так как росту дрожжевых колоний при этом не мешают грибы с быстро распространяющимся мицелием. Учет опытов в этих случаях следует производить дважды – через две недели и через месяц.

Стандартные полноценные питательные среды. Эти среды применяют с целью наиболее полного учета и выделения большинства видов дрожжей. Наиболее широко используемой полноценной средой для выращивания дрожжей является солодовое сусло. В его состав входят глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, мальтотриоза и мальтотетраоза, а также небольшое количество пентоз – арабиноза, ксилоза и рибоза. Азотные компоненты составляют 6 – 7% сухих веществ (СВ), среди них аммонийного азота 2,18 – 2,44 мг на 100 мл. В сусле имеются аминокислоты, все основные витамины группы В и минеральные вещества, содержание которых зависит от используемой воды.

3.6-7.3 Результаты и выводы:

Описать рост дрожжей на питательных средах, изучить под микроскопом морфологию, зарисовать увиденную картину.

3.8 Практическое занятие №8 (2 часа).

Тема: «Изучение низших грибов - возбудителей болезней растений»

3.8.1 Задание для работы:

1. Найти пораженные грибами растения для выделения чистой культуры.
2. Пораженные грибами части растений поместить во влажную камеру, через несколько суток пересеять.

3.8.2 Краткое описание проводимого занятия:

Органы растений, пораженные различными грибами. В зависимости от целей и методов исследования культивирование микроскопических грибов включает ряд этапов:

- 1) подготовка образцов естественных субстратов (почвы, пораженных органов растений или растительных остатков, зерна и т. д.), из которых предполагается сделать высев на обычные (агар Чапека) и элективные (избирательные) среды, обеспечивающие преимущественное развитие одного вида или группы родственных видов среды; определение наличия грибов.
- 2) выделение и получение чистых культур грибов на агаризованных питательных средах.
- 3) пересев чистых культур на дифференциально-диагностические среды для последующего определения их видовой принадлежности.

Культивирование микроскопических грибов с целью накопления биомассы или определенных продуктов метаболизма предполагает:

- 1) наличие чистой культуры;
- 2) подготовку стандартного посевного материала;
- 3) определение условий, необходимых для роста грибов и проявления их биосинтетической активности;

Метод чистых культур

Грибы выделяют в чистую культуру и наблюдают за ними *in vitro*. Наличие чистых культур дает возможность определить характер роста и спорообразования у грибов, особенности морфогенеза, выявить плодовые тела и виды спороношения, установить отношение грибов к факторам среды (температуре, влажности, источникам света, кислотности среды, радиации, компонентам субстрата); определить биосинтетическую активность продуктов метаболизма (ферментов, регуляторов роста, витаминов) грибов; выявить отношение грибов к фунгицидам, лекарственным препаратам; провести сравнительную характеристику изолятов видов грибов; провести популяционные исследования; выяснить взаимоотношения грибов друг с другом, охарактеризовать степень паразитизма, родство между грибами и т.д.

Выделение фитопатогенных грибов

Прежде чем получить чистую культуру изучаемого гриба, необходимо иметь споры или мицелий, свободные от заражения сапротрофной микробиотой. Одним из наиболее простых методов получения мицелия или органов спороношения является стимулирование роста грибов и спороношения в условиях повышенной влажности – применение влажных камер. Для их изготовления обычно используют чашки Петри. Перед закладкой объекта во влажную камеру его промывают в проточной воде или в нескольких водах. Выбор концентрации дезинфицианта и времени экспозиции зависит от целей исследования и характера исследуемого материала. Стерилизуют объект, используя 3 %-ную перекись водорода, 2 %-ный раствор марганцево-кислого калия, 70 %-ный этиловый спирт. Объект выдерживают в растворе в течение 1-5 мин и многократно промывают стерильной водой. Для грубых частей растений используют обжиг в пламени. Необходимую для проведения микологического эксперимента посуду моют с моющимися средствами, заворачивают в бумагу и стерилизуют в сушильном шкафу в течение 2 ч при температуре 180-200 °C. Инструмент стерилизуют спиртом и прокаливают на огне. В стерильные чашки Петри кладут 2-3 фильтра, увлажненные стерильной или проточной водой (реже жидкой питательной средой). После поверхностной дезинфекции исследуемый материал помещают в чашку Петри и ставят в термостат при

соответствующей температуре (обычно 20-25 °С). Фрагменты исследуемых пораженных объектов расскладывают так, чтобы они не соприкасались друг с другом. Выделение фитопатогенных микромицетов проводят из различных пораженных органов растений.

Выделение из корней

Свежевыкопанные корни многократно промывают проточной, затем стерильной водой, отжимают в нескольких слоях стерильной фильтровальной бумаги, отрезками длиной 1-3 см или целиком (у проростков) укладывают на кружки стерильной фильтровальной бумаги в чашках Петри и помещают в термостат при температуре 26 °С. Толстые корни разрезают вдоль или нарезают небольшие поперечные отрезки. Наблюдение за ростом грибов и их выделение производят через 24-48 ч и в последующие дни роста. Выделение из клубней, луковиц, корнеплодов, плодов

Для выделения патогенных грибов из клубней, луковиц, корнеплодов и плодов необходимы предварительный отмыв исследуемого материала от частиц почвы и поверхностная стерилизация. Срезают стерильно небольшой кусочек на границе пораженной и здоровой ткани и помещают его во влажную камеру или на агаризованную среду.

Выделение из стеблей и листьев. Грибы можно выделить не только из свежего материала, но и из гербарных образцов. Необходимо немедленно зафиксировать гербарный материал высушиванием, а также предохранять от заражения посторонней микробиотой. Листья, стебли или их части помещают в стерильный пакет из фильтровальной бумаги и высушивают в нем. После высушивания листьев пакет помещают во второй пакет, также стерильный, но из более плотной бумаги. В таком виде хранят до исследования. Перед выделением гриба материал помещают во влажную камеру. При поражении листьев или лепестков химической обработки не ведут, а промывают несколько раз водой и увеличивают число повторностей пораженного материала.

Выделение из зерна хлебных злаков и семян. Семена дезинфицируют, если предполагают наличие внутреннего заражения. Если определяют внешнюю заспоренность, то дезинфекцию проводят. Зерна или семена после поверхностной дезинфекции укладывают на фильтровальную бумагу через 0,5-1 см; из одной исследуемой партии зерна берут 100-1000 зерен.

3.8.3 Результаты и выводы:

Проведенные исследования оформить протоколом, зарисовать мицелий и органы спороношения.

3.9 Практическое занятие № 9 (2 часа).

Тема: «Физиология грибов»

3. Определение протеолитической, гемолитической и фосфолипазной активности грибов

3.9.1 Задание для работы:

1. Определить рост спор грибов.
2. Определить интенсивность спорообразования.

3.9.2 Краткое описание проводимого занятия:

Рост спор при прорастании определяют по увеличению объема. Готовят взвесь определенной навески спор в определенном объеме воды или питательной среды и подсчитывают в счетной камере их количество в единице объема с последующим пересчетом на общее содержание в навеске или весовой единице (в миллиграммах). Затем взвесь центрифицируют в градуированных пробирках и определяют объем навески до прорастания. По разнице объемов навески спор до и после прорастания определяют увеличение их биомассы, а при пересчете на одну спору - увеличение ее объема во время набухания (с

соответствующей Поправкой на число проросших спор).

Интенсивность спорообразования (т. е. увеличение числа клеток) при росте гриба на плотной среде определяют в счетной камере или в нескольких полях зрения микроскопа по количеству спор в определенном объеме взвеси. Для этого блок агаровой культуры определенной площади помещают в определенный объем физиологического раствора или жидкой среды и в течение нескольких минут встряхивают на качалке для освобождения спор и перехода их во взвесь. Блоки агаровой культуры можно брать лабораторным сверлом. При росте гриба в чашках Петри, например, блоки вырезают вдоль линии окружности. В этом случае определяют интенсивность спорообразования в зависимости от возраста гриба. При взятии блоков вдоль линий окружности на разных расстояниях от центра роста культуры выясняют влияние степени истощения субстрата и других условий на спорообразование. При поверхностном или погруженном культивировании в жидкой питательной среде интенсивность спорообразования определяют по количеству конидий в определенном объеме культуральной жидкости. Пробу культуры, помещенную в жидкую среду, встряхивают на аппарате в течение 15-30 мин и центрифугируют. Время осаждения спор зависит от вида гриба и определяется экспериментально. Из определенной навески осадка спор готовят взвесь и в счетной камере подсчитывают число спор в единице объема. Густоту взвеси можно измерить нефелометрическим методом, который отличается быстротой и удобен для микробиологических исследований, особенно немицелиального роста грибов. Иногда для этой цели применяют электронные счетчики.

Биосинтетическую активность грибов определяют для характеристики фаз роста гриба при разных способах культивирования, исследования влияния состава субстрата и других факторов на рост культуры и активность образования определенных метаболитов. Показателями биосинтетической активности грибов могут служить их биомасса и синтез продуктов первичного и вторичного метаболизма, определение которого осуществляют различными биохимическими методами. Однако рост мицелия не всегда прямо коррелирует с биосинтетической активностью; в некоторых случаях отмечается обратная зависимость. Наиболее четкая прямая корреляция прослеживается по содержанию белка, НК, активности дыхания, потреблению продуктов питания, выделению метаболитов и ферментов.

Определение протеолитической активности грибов. Протеолитическую активность штаммов рабочей коллекции определяется по количеству разжиженной желатины на 7 сутки культивирования. Если желатина разжижается, то это указывает интенсивность разжижения

3.9.3 Результаты и выводы:

Заполнить протокол с собственными исследованиями.

3.10 Практическое занятие №10 (2 часа).

Тема: «Вторичный метаболизм грибов».

3.10.1 Задание для работы:

3.10.2 Краткое описание проводимого занятия:

Антибиотики – специфические продукты жизнедеятельности некоторых видов грибов, которые задерживают или полностью подавляют рост других видов микроорганизмов. В переводе с греческого означает «против жизни». Следовательно, антибиотики – это вещества, обладающие токсическим действием их продуцентов, которые обладают ядовитым свойством по отношению к другим микроорганизмам.

Поэтому антибиотики можно считать токсинами бактерий и других микроорганизмов. Понятие антибиотиков не точно так как известны многие антибиотики обладающие токсическим действием на организм человека и животных. Возможность использования рассматриваемых грибов для создания профилактических и лечебных средств стала реальной после многолетних фундаментальных исследований процессов жизнедеятельности макромицетов, в том числе особенностей их роста и развития, характера и механизма метаболической и ферментативной активности. Начатые в 50-е годы прошлого столетия широкий поиск и изучение биологически активных соединений среди растений и микроорганизмов не могли не затронуть и высшие грибы. С этого времени тысячи образцов базидиомицетов и их метаболитов были включены в исследования. Результатам изучения структуры и биологической активности макромицетов посвящены многочисленные обзорные статьи и монографии. Вторичный метаболизм характерен для репродуктивной фазы развития грибов. Он отражает индивидуальные особенности грибного таксона. Образующиеся в процессе вторичного метаболизма продукты специфичны для продуцирующего их штамма, вида или рода гриба; они могут вызывать дифференцировку таллома. Различные вторичные метаболиты (антибиотики, микотоксины) могут действовать на другие организмы. К вторичным метаболитам относятся половые гормоны, микоспорины, пигменты, антибиотики, микотоксины. Так, например, из примерно 3200 известных антибиотиков 772 (около 24%) синтезируются грибами (пенициллин, цефалоспорин С, гризофульвин и др.). Микотоксин афлатоксин, попадая в организм человека или животного с зараженной грибами пищей, оказывает канцерогенное, тератогенное, мутагенное действие и нарушает иммунные реакции. Среди биологически активных веществ грибов выделяют стимуляторы роста, витамины, антибиотики. Антибиотики требуют более детального рассмотрения и будут рассмотрены нами в дальнейших главах. Многие виды сапрофитных и фитопатогенных грибов в процессе жизнедеятельности и при определенных условиях культивирования выделяют в значительном количестве такие вещества, как ауксины, гиббереллины и витамины. Вещества, которые в малых концентрациях стимулируют, изменяют процессы роста и развития растений, называют ростовыми веществами или регуляторами роста. На процессы роста и развития могут влиять многие метаболиты, например, ряд органических кислот, аминокислот, но их действие строго специфично. Открытие стимуляторов роста типа ауксинов в 30-х годах привело к установлению группы соединений, которые относятся к бета-уксусной кислоте. Ауксины образуются в процессе метаболизма многих грибов и проявляют стимулирующее действие на рост и развитие растений. В растительном мире ауксины обычно содержатся в точках роста и принимают участие в процессах роста растений, прорастания семян и тропизмах. Соединения группы ауксинов образуют многие виды почвенных грибов и актиномицетов. Гиббереллины являются специфичными стимуляторами роста, которые образуются *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum* и другими грибами. Наряду с выраженным действием гибберилина на изменение морфологии растений, он оказывает влияние на многие стороны обмена веществ - изменение содержания углеводов, азотистых веществ, активность ферментов, изменяет активность фотосинтеза. Однако характер и уровень указанных изменений зависит от дозы гиббереллина и условий питания растений. Гиббереллины, как и другие биологически активные вещества могут проникать в ткани растений через корневую систему. Источником их могут быть грибы, обитающие на корнях растений, например, фузарии. В процессе жизнедеятельности фитосимбиотрофные виды грибов, которые синтезируют ауксины и гиббереллины, могут проникать в клетки корня растений и передвигаться в нутрии него. Витаминообразование корнеобитающих грибов стимулирует корнеобразование растений. Некоторые витамины синтезируемые грибами в зависимости от условий роста могут выделяться в культуральную жидкость или накапливаться в мицелии грибов. Витамины группы В отмечены в мицелии и культуральной жидкости пенициллов, фузарии выделяют тиамин, биотин, пиридоксин, никотиновую и

пантотеновую кислоты, аспергиллы аккумулируют в клетках или выделяют в окружающую среду значительные количества тиамина, рибофлавина. Таким образом, образование витаминов у грибов зависит от штамма продуцента и условий культивирования.

3.10.3 Результаты и выводы:

Описать в виде таблицы вторичные продукты метаболизма грибов и дать им характеристику.

3.11-12 Практическое занятие №11-12 (4 часа).

Тема: «Влияние факторов внешней среды на микроорганизмы».

3.11-12.1 Задание для работы:

1. Изучить влияние температуры на развитие фитопатогенных микромицетов: $t1 = + 4^{\circ}\text{C}$ (в холодильнике); $t2 = + 10^{\circ}\text{C}$ (в термостате); $t3 = + 20^{\circ}\text{C}$ (в аудитории); $t4 = + 35^{\circ}\text{C}$ (в термостате). Повторность опыта – 3-х кратная.

2. Изучить влияние рН среды на развитие грибов.

3.11-12.2 Краткое описание проводимого занятия:

Изучаемый гриб высевают в центр чашки Петри на среду по возможности немногочисленным инокулюмом всегда одной плотности и инкубируют.

Диаметр выросшей колонии измеряют линейкой в двух взаимно перпендикулярных направлениях в пяти повторностях через определенные промежутки времени (каждые 24 ч). Количество измерений зависит от скорости роста. Интенсивность линейного роста колоний учитывают через 4, 6, 8 сут. Параллельно учитывают изменение окраски среды, мицелия. Описывают характер края, поверхность, цвет колонии, отмечают начало спорообразования, склероциеобразование и т.д. Площадь колонии вычисляют по формуле: $S = \pi \times r^2$. Радиальную скорость роста колонии определяют по формуле.

Приготовить среды с различными значениями рН (3, 4, 7, 8). Посеять культуру грибов и оценить рост.

3.11-12.3 Результаты и выводы:

Влияние температуры на рост грибов

Вид гриба	Радиальная скорость роста колоний, мм/ч					
	$t1$	$t2$	$t3$	$t4$	$t5$	$t6$

Влияние рН на рост грибов

Вид гриба	Радиальная скорость роста колоний, мм/ч			
	pH	pH	pH	pH

3.13 Практическое занятие №13 (2 часа).

Тема: «Противогрибковые препараты. Определение лекарственной чувствительности грибов».

3.13.1 Задание для работы:

1. Познакомиться с антимикотическими препаратами.
2. Выявить антибиотикочувствительность у микомицетов.

3.13.2 Краткое описание проводимого занятия:

Антибиотики. Эти вещества, образуемые бактериями, грибами, растениями, животными тканями, способны убивать микроорганизмы или подавлять их рост. Абсолютное большинство известных антибиотиков получают из актиномицетов. Бактерии синтезируют такие антибиотики, как полимиксины, грамицидины, бацитрацин, гризин. Из грибов выделены пенициллины, цефалоспорины, фумагиллин, гризофульвин, из животных тканей — эритрин, экмолин, из высших растений — аллицин и др. Часть антибиотиков получают химическим синтезом (левомицетин), а большинство — биосинтезом. Активность препаратов определяют бактериологическими или физико-химическими методами. Биологическую активность антибиотиков выражают в условных единицах действия — ЕД. За 1 ЕД принимают специфическую активность, содержащуюся в 1 мкг чистого препарата. Активность товарных антибиотиков чаще всего выражают в мкг активного вещества, содержащегося в 1 мг препарата.

Успех лечения инфекционных заболеваний человека и животных зависит от выбора эффективного лекарственного средства с учетом чувствительности к нему возбудителя болезни. Материал для лабораторного исследования следует брать до лечения антимикробными препаратами. Чувствительность микроорганизма к антибиотикам определяют с чистой культурой возбудителя.

Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. К ним относят метод диффузии в агар, метод серийных разведений (на жидкой и плотной питательных средах) и ускоренные методы.

Метод диффузии в агар (метод бумажных дисков). Это наиболее простой в исполнении метод. В качестве питательной среды применяют МПА, агар на переваре Хоттингера. Диски с антибиотиками (диаметр 5...6 мм) готовят из специальных сортов фильтровальной бумаги. Каждый диск содержит определенное количество антибиотика, которое указано на этикетке флакона. Во флакон насыпают силикагель, который впитывает влагу и служит индикатором: при переувлажнении меняет окраску с синей на розовую. При изменении окраски силикагеля во флаконе диски для использования непригодны. Флаконы с дисками хранят при температуре 4...20 °С. Расплавленную питательную среду разливают в чашки Петри по 20 мл (толщина слоя 4...5 мм). Перед посевом чашки со средой досушивают в термостате. Для посева используют суточную бульонную культуру или смывы суточной агаровой культуры. 1 мл микробной суспензии в физиологическом растворе (концентрация клеток 10⁹/мл) наносят на агар и покачиванием чашки распределяют по поверхности питательной среды. Избыток жидкости удаляют стерильной пастеровской пипеткой. Засеянные чашки Петри подсушивают при комнатной температуре 30...40 мин, а затем на поверхность среды стерильным пинцетом накладывают, плотно прижимая, диски с разными антибиотиками на расстоянии 2 см друг от друга и от края чашки. Чашки с дисками выдерживают в термостате при 37 °С 18 ч в положении вверх дном. Антибиотик из диска дифундирует в агар, вызывая гибель чувствительных бактерий, формируя таким образом вокруг диска зону отсутствия роста. Ближе к диску концентрация антибиотика в агаре выше, по мере удаления от диска концентрация снижается. Следовательно, чем больше диаметр зоны задержки роста вокруг антибиотика, тем более чувствительна к нему исследуемая культура.

Диаметр зоны задержки (отсутствия) роста микроорганизмов измеряют с помощью линейки или миллиметровой бумаги с точностью до 1 мм. Отсутствие зоны задержки роста микроорганизмов вокруг диска указывает на устойчивость исследуемой культуры к данному антибиотику. При зоне задержки роста до 14 мм говорят о малой

чувствительности к антибиотику, от 15 до 25 мм — о достаточной чувствительности, свыше 25 мм — о высокой чувствительности.
 а — к пенициллину; б — к стрептомицину; в — к неомицину; / — зона задержки роста (стерильная зона); 2 — сплошной рост бактерий на поверхности питательной среды; 3 — бумажный диск с антибиотиком

Метод серийных разведений. Методы разведения основаны на использовании двойных последовательных разведений концентраций антибиотика от максимальной к минимальной. При этом антибиотик в различных концентрациях вносят в жидкую питательную среду (бульон) или в агар. Затем бактериальную суспензию определенной плотности, соответствующую стандарту мутности 0,5 по McFarland, помещают в бульон с антибиотиком или на поверхность агара в чашке. После инкубации в течение ночи при температуре 35-37°C проводят учет полученных результатов. Наличие роста микроорганизма в бульоне (помутнение бульона) или на поверхности агара свидетельствует о том, что данная концентрация антибиотика недостаточна, чтобы подавить его жизнеспособность. По мере увеличения концентрации антибиотика рост микроорганизма ухудшается. Первую наименьшую концентрацию антибиотика (из серии последовательных разведений), где визуально не определяется бактериальный рост принято считать минимальной подавляющей концентрацией (МПК). Измеряется МПК в мг/л или мкг/мл.

3.13.3 Результаты и выводы:

Выполнить исследования. Заполнить таблицу.

Протокол исследования

Название микромицета	Название антибиотика	Зона задержки роста	Вывод о чувствительности к антибиотику

3.14-15 Практическое занятие №14-15 (2 часа).

Тема: «Выделение грибов из природных субстратов. Выделение грибов из почвы».

3.14-15.1 Задание для работы:

- Произвести выделение грибов из почвы.

3.14-15.2 Краткое описание проводимого занятия:

Выделение грибов из почвы

1. Метод «контактных стекол» (метод Росси-Холодного) – метод выделения микроорганизмов непосредственно из места их расположения в почве. Стерильные предметные стекла прижимают к почве. Через несколько дней стекла встряхивают для освобождения от крупных комочек почвы и помещают на поверхность агаровой среды, в которую добавлен антибиотик, стороной, соприкасавшейся с почвой. Выросшие грибы просматривают при малом увеличении микроскопа и после определенного периода инкубации колонии переносят на свежую среду.

2. Метод разведения почвенной суспензии. Чаще всего для этих целей применяют разведение 1:10 (10 г почвы на 100 мл воды), 1:100, 1:1000. Суспензии с большим разведением высевают на агар. После появления спороношения или признаков развития мицелия его пересевают на агаризованную питательную среду непосредственно в пробирку на склоненный агар или предварительно на агаризованную среду, разлитую в чашки Петри. Для освобождения от бактерий, посевы исследуемых грибов и первичное

выделение культур производят на средах с pH 4,0 с добавлением в среду для посева антибиотиков с широким спектром антибактериального действия (канамицин и др.) в концентрации 1-2 г/л питательной среды. Облигатных паразитов выращивают на живых растениях или специальных средах. Для дальнейшей работы очень важно провести расчистку культуры. Это осуществляется штриховой разводкой, разведением в стерильной воде или среде.

1. Небольшое количество спороношения гриба снимают петлей и наносят штрихом на поверхность агара в чашки Петри. По мере продления штриха споры все более разделяются до тех пор, пока в итоге не получаются индивидуальные колонии, возникшие из нескольких или единичных спор.

2. Готовят разведения путем помещения инокулюма спор пробирку со стерильной водой (10 мл), затем стерильной пипеткой переносят определенное количество суспензии (например, 1 мл) в пробирку с 9 мл стерильной воды. Свежая стерильная пипетка используется, чтобы смешать жидкость и перенести 1 мл ее в очередную пробирку, содержащую 9 мл стерильной воды. Разведение продолжают по мере потребности. Из последнего разведения 1 мл суспензии спор добавляют к расплавленному агару, охлажденному до 45 °C.

3. Используют пять пробирок с соответствующей средой, расплавленной и охлажденной до 45 °C. Затем в одну из пробирок вносят небольшое количество спор; пробирку врашают между ладонями и содержимое выливают в чашку Петри. Опорожненную пробирку заполняют средой из другой пробирки, врашают между ладонями и выливают во вторую чашку. Процедуру повторяют с оставшимися тремя.

3.14-15.3 Результаты и выводы:

Приготовить микропрепараты и изучить морфологию выделенных грибов. Попытаться их идентифицировать до типа. Зарисовать увиденную картину.

3.16 Практическое занятие №16 (2 часа).

Тема: «Выделение грибов из пищевых продуктов».

3.16.1 Задание для работы:

1. Приготовить препараты их грибов, вызвавших порчу пищевых продуктов.
2. Идентифицировать их, зарисовать увиденную картину.

3.16.2 Краткое описание проводимого занятия:

Различные плесневые грибы, встречающиеся в пищевых продуктах и кормах, в большинстве случаев являются вредными для организма человека и животных. Однако в отдельных случаях они оказываются полезными, в силу чего специально разводятся и используются человеком. Плесневые грибы, поселяющиеся на пищевых продуктах и кормах, вредны тем, что в процессе своей жизнедеятельности:

1. активно расщепляют углеводы и другие органические вещества, тем самым снижая пищевую ценность продуктов;
2. образуют различные ароматические кислоты, смолы, эфирные масла и другие продукты своей жизнедеятельности, в силу чего изменяют вкусовые свойства пищевых продуктов, придавая им неприятный запах и прогорклый вкус;
3. некоторые из плесневых грибов выделяют, кроме того, токсические вещества, вредно отражающиеся на здоровье человека и животных;
4. многие из них способны паразитировать на человеке и животных, поражая как внутренние их органы, так и наружные покровы.

Эта вредная деятельность плесневых грибов обусловливается наличием у них большого количества различных ферментов. Так, *Aspergillus niger* и *A. ogyzae*, относящиеся к числу наиболее широко распространенных видов плесеней, обладают:

первый 18, а второй — 12 ферментами. Причем набор этих ферментов не является постоянным, а может меняться в зависимости от характера самой среды, которую они разлагают. В силу этого плесневые грибы обладают способностью не только разлагать различные углеводы (полисахариды и дисахариды), но и разрушать пектиновые вещества, расщеплять жиры, способствовать распаду протеинов и т. д. Плесневые грибы *Aspergillus glaucus*, *A. niger* и *Cladosporium herbarum*, обнаруживаются часто на мясе и мясных продуктах.

3.16.3 Результаты и выводы:

Сделать выводы о принадлежности грибов к определенному отделу, оформить исследования протоколом, зарисовать увиденную под микроскопом картину.

3.17 Практическое занятие №17 (2 часа).

Тема: «Экология грибов».

3.17.1 Задание для работы:

1. Отобрать пробы материала для выделения грибов из разных биотопов.
2. Произвести посев на питательные среды, осуществить культивирование.
3. Идентифицировать культуры грибов.

3.17.2 Краткое описание проводимого занятия:

С учетом среды обитания (по *топическому* признаку) или приуроченности к определенным субстратам (*трофический* признак) выделяют экологические группы грибов. К числу наиболее обширных экогрупп относятся *почвенные* грибы. В 1 г лесной почвы насчитывают до сотен тысяч грибных пропагул (зачатков). С почвами связано от 30 до 50 % видов известных в настоящее время грибов всех систематических групп. Среди грибов, живущих в почве постоянно или связанных с ней только на определенных стадиях жизненного цикла, можно встретить представителей разных таксономических групп. Так, у видов рода *Mucor*, *Mortierella* (зигомикота), *Trichoderma* (дайтеромикота) в почве проходят все стадии развития, грибы не покидают эту среду. А виды родов *Fusarium*, *Botrytis*, тоже постоянно присутствующие в почве, могут также проникать в ткани растений и вызывать их заражение, формировать бесполое спороношение, хламидоспоры, склероции, которые сохраняются после отмирания растений в почве. Ряд грибов попадает в почву случайно — с природными водами, из воздушной среды и находится в ней в состоянии покоя или в неактивном состоянии. Обитающие в почве грибы подразделяют на более мелкие группы: подстилочные сапротрофы, разрушающие лесную подстилку; гумусовые сапротрофы, грибы ризосфера (развиваются в зоне корней). Небольшое число грибов встречается на мхах — бриотрофы, на базидиомах макромицетов — микотрофы, на экскрементах животных — копротрофы, на углях — карботрофы. К почвенным можно отнести также часть хищных грибов, которые улавливают простейших, нематод, мелких насекомых (гифомицеты, зигомицеты, оомицеты и хитридиомицеты). Водные грибы распространены в пресных и соленых морских водах, включают сапротрофов, развивающихся на растительных и животных остатках, и паразитов простейших, водных животных, растений и водорослей. Часть из них являются первичноводными организмами (хитридиевые, сапролегниевые), часть — вторичноводные, которые перешли в воду из наземной среды обитания (это преимущественно аскомикоты и дайтеромикоты, например, деструкторы растительного опада в водных экосистемах), грибы, участвующие в обрастаниях деревянных частей судов и причалов; развивающиеся в речном и морском иле и т. д.). В целом грибы входят в гетеротрофный блок водных экосистем. На поверхности различных органов растений (ветвях, стеблях, плодах) развивается группа эпифитных грибов — сапротрофов, не проникающих в ткани растений. Грибы, обитающие

на поверхности листьев, получили название грибов филлопланы. Это также сапротрофы, которые питаются выделениями растений (например, различные дрожжи, грибы черни). Эндофитные грибы развиваются в тканях растения, однако не оказывают патологического влияния на растение-хозяина. Обычно это мицелиальные формы аскомикот. Отмечено, что эндофиты выделяют биологически активные вещества, усиливающие вегетативный рост зараженных растений и повышающие их устойчивость к засухе и другим неблагоприятным факторам. Иногда эндофиты злаков препятствуют образованию репродуктивных органов (соцветий), формируют спороношение и вызывают заражение других растений. С другой стороны, некоторые паразитные грибы могут длительное время существовать как эндофиты, не вызывая патологического процесса (например, грибы рода *Ophiostoma* в сосудах ксилемы дуба). По трофическому признаку можно выделить грибы-сапротрофы, паразиты и симбиотрофы. Сапротрофные грибы представляют подавляющую часть микобиоты, которая выполняет основную функцию в экосистемах: освобождение углерода, связанного растениями в процессе фотосинтеза. Через их тело проходит до 2/3 связанного углерода Земли. Это преимущественно почвообитающие грибы, которые обычно распределяются по следующим трофическим группам: гумусовые сапротрофы, подстилочные сапротрофы, ксилотрофы (разлагают мертвую древесину, например, трутовые грибы), копротрофы (развиваются на экскрементах травоядных животных, например, *Pilobolus*). Паразитические грибы развиваются преимущественно на растениях, реже на животных, в том числе и человеке. Массовое поражение отдельных видов и биотипов (сортов дикорастущих и культивируемых растений) может приводить к их значительному угнетению, снижению и потере репродуктивной функции, порче урожая, иногда – к тотальной гибели растений и изменению состава фитоценозов. Последствия таких эпифитотий могут быть катастрофическими как для самих растений (например, гибель вязов в Голландии вследствие офиостомоза; каштановых лесов на востоке США из-за поражения коры раком; в XIX в. кофейных деревьев на о. Цейлон (Шри-Ланка), пораженных ржавчиной; сосен, пораженных корневой губкой и др.), так и для человека (например, в середине XIX в. голод и массовая эмиграция ирландцев в результате панфитотии фитофтороза, уничтожившего урожай картофеля в течение двух лет подряд; массовое заболевание в европейских странах стеблевой ржавчиной хлебных злаков в 1932 г.; массовые отравления (токсикозы) людей и животных зерном (мукой), пораженным спорыней, фузариумами и другими патогенами). Считается, что сапротрофный способ питания первичен для грибов, а паразитизм возник как результат специализации и освоения новых экологических ниш. Известны многие переходные формы грибов от факультативных (необязательных) до obligatных (обязательных) паразитов (биотрофов).

К паразитным грибам близки симбиотрофы. Они также используют для питания вещества живых клеток растений, но наряду с вредом приносят и ощутимую пользу, в целом повышая жизнеспособность и конкурентоспособность растений. Симбиоз грибов с корнями высших растений привел к формированию нескольких типов микоризы: эктотрофной, эндотрофной и экто-эндотрофной. Во всех случаях гриб получает от растения необходимые питательные вещества. При формировании эктотрофной микоризы через гифы гриба усиливается транспорт воды в корень (при этом корневые волоски не развиваются); переводятся в усвояемую, доступную для растения форму соединения фосфора из почвы, из мицелия в растения поступают различные биологически активные вещества, синтезируемые грибом; мицелиальные чехлы вокруг кончиков корней и выделяемые антибиотики предохраняют от проникновения почвенных патогенов. Этот тип микоризы образуют преимущественно базидиальные грибы (макромицеты) и аскомицеты. При эндотрофной арbusкулярной микоризе древовидно разветвленные гифы находятся в клетках коры корня и частично в межклетниках, изредка выступают за пределы корня в почву. При этом корневые волоски у корня сохраняются. Это наиболее

древний тип микоризы, отмеченный у перворастений сушки риниофитов (силур, 450 млн. лет). В формировании эндомикоризы участвуют преимущественно гломовые грибы из отдела зигомикота, а также некоторые анаморфные, несовершенные грибы. Эндотрофная микориза широко распространена среди высших травянистых растений: до 80 % вступают в симбиоз с грибами. Другой известнейший пример симбиотрофизма – лишайники, комплексные организмы, содержащие гетеротрофный и фототрофный компоненты. Характер отношений, возникающих между компонентами лишайника, дискутируется, однако несомненна ведущая роль гриба и активное использование им продуктов фотосинтеза фотобионта.

3.17.3 Результаты и выводы:

Заполнить протокол исследования, зарисовать увиденную картину.

4. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ПРОВЕДЕНИЮ СЕМИНАРСКИХ ЗАНЯТИЙ (не предусмотрено РУП)