

СИЛАБУС НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

вибіркова дисципліна: «Молекулярні методи діагностики хвороб рослин»			
Шифр та назва спеціальності	202 – Захист і карантин рослин	Відповідальні відділи/ лабораторії інституту:	Лабораторія фітопатології
Назва освітньо-наукової програми	«Захист і карантин рослин»		
ВИКЛАДАЧ	Положенець Віктор Михайлович – д.с.-г.н., професор		
ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ДИСЦИПЛІНУ			
Анотація	Дисципліна спрямована на формування теоретичних знань та практичних вмінь володіння сучасних методів досліджень у фітопатології та внесення механізмів взаємовідносин рослини-живителя і патогена на молекулярному, клітинному і популяційному рівні. Оволодіння методологіями ідентифікації патогенів методами електронної мікроскопії, гель-електрофорезу, хроматографії та ін., вміти користуватися біохімічними і молекулярно-генетичними методами досліджень.		
Мета та цілі	Основна мета навчальної дисципліни «Молекулярні методи діагностики хвороб рослин» – оволодіти методами ідентифікації збудників хвороб рослин як за культурально-морфологічними ознаками, так і за допомогою сучасних технологій, що передбачає дослідження геному та метаболітів; знати загальну характеристику збудників хвороб рослин: грибів, вірусів, віроїдів, бактерій, мікоплазм, нематод; їх співвідношення в загальному патогенному комплексі культурних рослин; їх відмінності за розміром та способами ідентифікації; мікроскопічні методи ідентифікації грибів, нематод, бактерій, вірусів Отримані знання – це основа більш ефективного, науково-обґрунтованого екологічно безпечного захисту сільськогосподарських культур від інфекційних захворювань.		
Формат	Лекції, практичні та лабораторні заняття, самостійна робота. Підсумковий контроль –залік		
Результати навчання	В результаті вивчення навчальної дисципліни аспірант повинен знати: методи світлової, люмінісцентної і флуорисцентної мікроскопії, використання радіоактивних та флуорисцентних міток у мікроскопії біологічних об'єктів; методи електронної мікроскопії при ідентифікації вірусів; використання імунферментного аналізу та імунно-електронної мікроскопії; методи біохімічних досліджень бактерій; метод гель-електрофорезу: ідентифікація віроїдів методом гель- електрофорезу та інші приклади використання гель-електрофорезу: розділення фрагментів ДНК, електрофоретичне розділення продуктів ПЛР-аналізу; хроматографічні методи дослідження: тонкошарову, газову та рідинну хроматографію, методи виявлення мікотоксинів у зерні, метод ВЕРХ (високоєфективна рідинна хроматографія); методи спектроскопії та спектрофотометрії, принцип роботи мас-спектрометра, використання мас-спектрометрії та методу ВЕРХ-МС при дослідженні біологічних об'єктів; молекулярні методи ідентифікації видів, використання ДНК-зондів для ідентифікації вірусів і віроїдів, ПЛР-аналіз, секвенування; методи аналізу структури і експресії генів, біосенсорний метод діагностики хвороб, ідентифікації видів та забруднення рослинної продукції мікотоксинами. й уміти використовувати методи досліджень біологічних особливостей фітопатогенів на посівах сільськогосподарських культур; оцінювати фітосанітарний стан на основі знання біологічних особливостей фітопатогенів. Вміти: за симптоматикою хвороби правильно визначати тип збудника; правильно визначати методологію ідентифікації видової належності фітопатогена в залежності від типу захворювання; проводити видову ідентифікацію збудників хвороб рослин з використанням сучасних мікроскопічних, біохімічних, молекулярно- генетичних методів досліджень; користуватися методами світлової мікроскопії для ідентифікації збудників ірибних хвороб рослин; використовувати мітки в світловій та конфокальній мікроскопії; визначати патогенні властивості збудників, їх расовий склад.		
Обсяг	Загальний обсяг дисципліни 240 годин: лекції – 30 год., практичні заняття – 16 год., лабораторні заняття – 14 год., самостійна робота – 180 год.		
Пререквізити	Курси дисциплін з фітопатології, розуміння комплексів ознак фітопатогенів на морфологічному, цитологічному та біохімічному рівнях, а також з основ біології, морфології й екології, типів розмноження та життєвих циклів окремих представників для здобувачів другого (магістерського) рівня вищої освіти		
Ознаки	Вибіркова навчальна дисципліна, що формує фахові компетентності у аспіранта		
Курс / семестр	2/4		

СТРУКТУРА ДИСЦИПЛІНИ							
Л. 1	Загальна характеристика збудників хвороб рослин.	Лаб. р. 1.	Хімічна будова нуклеотидів	Пакт. р. 1.	Морфологічні ознаки грибів-збудників хвороб рослин	С а м о с т і й н а	Підготувати реферат на тему: «Мікроскопічні методи ідентифікації грибів»
Л. 2	Мікроскопічні методи ідентифікації грибів, нематод.	Лаб. р. 2.	Фінгерпринтинг	Пакт. р. 2.	Морфологія фітопатогенних бактерій (Erwinia, Pseudomonas, Bacillus, Agrobacterium)		Підготувати реферат на тему: «Мікроскопічні методи ідентифікації нематод»
Л. 3	Електронна мікроскопія бактерій і вірусів.	Лаб. р. 3.	Морфологічні ознаки актиноміцетів – збудників хвороб картоплі	Пакт. р. 3.	Морфологія рослинних вірусів		Підготувати реферат на тему: «Електроскопія щодо ідентифікації бактеріозів»
Л. 4	Біохімічні дослідження фітопатогенів на основі використання гель-електрофорезу.	Лаб. р. 4.	Діагностика фітопатогенних бактерій зернових культур	Пакт. р. 4.	Гель-електрофорез		Підготувати реферат на тему: «Електроскопія вірусів»
Л. 5	Хроматографічні методи дослідження.	Лаб. р. 5.	Механізм проникнення фітопатогенних бактерій в рослину-господаря	Пакт. р. 5.	Флуорисценція в біології. Хроматографія. Спектрофотометрія.	Р о б о т а	Підготувати реферат на тему: «Імунно-ферментний аналіз для ідентифікації хвороб рослин»
Л. 6	Мікроскопічні методи ідентифікації нематод.	Лаб. р. 6.	Джерела інфекції і шляхи розповсюдження збудників хвороб грибної таксономії	Пакт. р. 6.	Реплікація ДНК. Гібридизація, ампліфікація.		Підготувати реферат на тему: «Біохімічні дослідження бактерій рослин на основі використання гель-електрофорезу»
Л. 7	Молекулярні методи ідентифікації видів мікоплазм.	Лаб. р. 7.	Способи вегетативного розмноження міцелію грибів та їх видозміни	Пакт. р. 7.	Полімеразно-ланцюгова реакція		Підготувати реферат на тему: «Вивчення мікротоксинів у зерні зернових і бобових культур»
Л. 8	Використання ДНК-зондів для ідентифікації вірусів і віроїдів.			Пакт. р. 8.	Секвенування ДНК		Підготувати реферат на тему: «Використання спектрометрії та хроматографії для визначення білків в окремих органах рослин»
Л. 9	Секвнування нового покоління.						Підготувати реферат на тему: «Використання ДНК-зондів для ідентифікації мікоплазматичних організмів»
Л. 10	Імуно-ферментний аналіз для ідентифікації хвороб рослин.						
Л. 11	Використання ДНК-зондів для ідентифікації мікоплазматичних організмів.						

Л. 12	Біохімічні дослідження мікоплазмених організмів.						
Л. 13	Імунна електронна мікроскопія в діагностиці мікоплазмів.						
Л. 14	Ідентифікація фітогельмінтозів, їх частка в загальному патогеному комплексі культурних рослин.						
Л. 15	Ідентифікація збудників бактеріальних хвороб рослин. Імуноферментний аналіз та імуноелектронна мікроскопія в діагностиці рослин.						

ПЕРЕЛІК ПИТАНЬ ДО ЗАЛІКУ

1. Етапи діагностики інфекційних хвороб рослин.
2. Методи діагностики хвороб рослин та ідентифікації збудників.
3. Наведіть приклади інструментальних методів, які використовуються для діагностики хвороб рослин та ідентифікації збудників.
4. Опишіть мікроскопічні методи ідентифікації мікроорганізмів-збудників хвороб рослин.
5. Які збудники хвороб рослин відносяться до мікроорганізмів? Укажіть розміри окремих груп мікроорганізмів-збудників хвороб рослин.
6. В яких одиницях вимірюють розміри мікроорганізмів?
7. Яке збільшення необхідне для візуалізації таких фітопатологічних об'єктів: спор, плодових тіл мікроміцетів, бактерій, вірусів, мікоплазм, нематод?
8. Скільки видів мікроскопічних грибів описано на даний час, скільки серед них збудників хвороб рослин?
9. Несправжні гриби, подібність і відмінність між справжніми і несправжніми грибами.
10. Класичні та сучасні методи ідентифікації грибів – збудників хвороб рослин. В чому переваги сучасних інструментальних методів в діагностиці грибних хвороб рослин?
11. Хто винайшов оптичний мікроскоп і в якому столітті?
12. Які типи оптичної мікроскопії Ви знаєте? Охарактеризуйте розвиток оптичної мікроскопії.
13. Історія відкриття вірусів.
14. Розміри вірусів, одиниці вимірювання.
15. Наведіть приклади розмірів бактерій, мікоплазм, вірусів.
16. Що таке віроїди, чим вони відрізняються від вірусів?
17. Що таке віріони?
18. Охарактеризуйте класичні і сучасні методи діагностики вірусів. Дайте їм порівняльну оцінку.
19. В яких одиницях вимірюються розміри геномів мікроорганізмів?

20. Наведіть приклади розміру геномів віруса, мікоплазми, бактерії, гриба.
21. У чому відмінності між прокаріотами та еукаріотами?
22. Який відсоток становлять кодуєчі послідовності в геномі бактерії?
23. Який відсоток становлять кодуєчі послідовності в геномах грибів?
24. Які мікроорганізми домінують у ґрунті за чисельністю?
25. Які мікроорганізми домінують у ґрунті за біомасою?
26. В яких одиницях вимірюється чисельність мікроорганізмів у ґрунті?
27. До групи яких мікроорганізмів за сучасною систематикою належать актиноміцети, мікоплазми, рикетсії?
28. У чому полягає унікальність актиноміцетів? Наведіть приклади актиноміцетних хвороб рослин.
29. У чому полягає унікальність мікоплазм? Симптоми мікоплазмових хвороб рослин. Методи діагностики мікоплазмових хвороб рослин.
30. Що таке роздільна здатність мікроскопу? Укажіть роздільну здатність людського ока, світлового мікроскопа, електронного мікроскопа.
31. Які групи мікроорганізмів-збудників хвороб рослин можна ідентифікувати за допомогою світлового мікроскопа?
32. Що покладено в основу ідентифікації виду мікроміцета за допомогою світлового мікроскопа?
33. Для ідентифікації яких збудників хвороб рослин використовується імуноелектронна мікроскопія?
34. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація грибів?
35. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація бактерій?
36. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація вірусів?
37. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація нематод?
38. Завдяки винаходу якого типу мікроскопу стала можлива візуалізація мікоплазм?
39. Використання явища флуоресцентності в дослідженнях біологічних об'єктів.
40. Флуоресцентний та конфокальний мікроскоп.
41. Електронна мікроскопія. Які типи електронних мікроскопів ви знаєте? Порівняйте їх можливості.
42. Метаболітні профілі мікроорганізмів і їх використання в ідентифікації збудників хвороб рослин.
43. Мікотоксини фітопатогенних грибів. Методи їх виявлення, ідентифікації та кількісної оцінки.
44. Для ідентифікації яких видів мікроорганізмів використовують біохімічні тести?
45. Наведіть приклади грам-позитивних і грам-негативних бактерій - збудників хвороб рослин.
46. Охарактеризуйте серологічний метод ідентифікації мікроорганізмів.
47. Метод імуноферментного аналізу і його використання в діагностиці хвороб рослин.
48. Опишіть метод гель-електрофорезу і його використання в дослідженні біологічних об'єктів.
49. Для ідентифікації яких збудників хвороб рослин використовують гель- електрофорез?
50. Завдяки чому при гель-електрофорезі відбувається розділення субстанцій?
51. Опишіть метод спектрофотометрії. Наведіть приклади його використання в дослідженнях біологічних об'єктів.
52. Опишіть метод мас-спектроскопії. Наведіть приклади його використання в дослідженнях біологічних об'єктів.
53. Опишіть метод хроматографії. Як типи хроматографії ви знаєте? Наведіть приклади використання хроматографічного методу при дослідженні біологічних об'єктів.
54. Охарактеризуйте метод ВЕРХ (високоєфективна рідинна хроматографія). Наведіть приклади його використання в дослідженнях біологічних об'єктів.
55. Охарактеризуйте метод ВЕРХ-МС. Наведіть приклади його використання в дослідженнях біологічних об'єктів.
56. Наведіть приклади використання «міток» в дослідженнях біологічних об'єктів.

57. Назвіть інструментальні методи дослідження біологічних об'єктів, в яких використовуються такі мітки: барвник, флуорофор, білок, радіоактивний С.
58. Охарактеризуйте метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР-аналіз). Яка властивість ланцюга ДНК лежить в основі даної реакції?
59. Який метод ідентифікації віроїдів можна вважати передвісником методу ПЛР?
60. Історія винаходу ПЛР-аналізу.
61. Які основні стани ПЛР-аналізу?
62. Обладнання, необхідне для ПЛР-аналізу. Термоциклерн,
63. Що таке праймери?
64. Опишіть роль ДНК-полімерази в методі ПЛР.
65. Структура ДНК. Нуклеотиди, нуклеозиди, нуклеозидтрифосфати дезоксинуклеозидтрифосфати.
66. Азотисті основа ДНК і РНК.
67. Пентози у складі нуклеїнових кислот.
68. Як відбувається синтез нуклеїнових кислот? В якому напрямку записуються нуклеотиди у ланцюгу ДНК при їх синтезі?
69. Наведіть приклади послідовностей нуклеотидиді і розшифруйте їх.
70. Наведіть приклади структурних формул ділянок ДНК (1'1 ІК).
71. Що означає принцип комплементарності у нуклеїнових кислотах?
72. В сонні яких молекулярних методів біології лежить принцип комплементарності ДНК?
73. Що таке реплікація ДНК? Основний матеріал, який необхідний для реплікації ДНК.
74. Що таке ренатурація і денатурація ДНК?
75. Що таке рестрикція? Рестриктазн.
76. В яких одиницях вимірюються фрагменти ДНК. Розмір праймерів.
77. Рестриктазн і лігаза у ПЛР.
78. Трансформація ДНК.
79. Що таке «липкі кінці» у фрагментів ДНК (РНК)?
80. Використання методу гель-електрофорезу а ПЛР.
81. ПЛР в реальному часі.
82. Що таке «експресія генів»? Як визначається експресія генів у молекулярних дослідженнях?
83. Етапи синтезу білка: трансляція, транскрипція.
84. Біосенсорний аналіз в діагностиці хвороб та ідентифікації збудників.
85. Метод мікроареїв. Наведіть приклади використання методу мікроареїв в дослідженнях біологічних об'єктів та їх функцій.
86. Секвенування. Історія секвенування ДНК. Секвепатори.
87. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації мікроскопічних грибів-збудників хвороб рослин?
88. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації бактерій - збудників хвороб рослин?
89. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації вірусів-збудників хвороб рослин?
90. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації віроїдів-збудників хвороб рослин?
91. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації мікоплазм-збудників хвороб рослин?
92. Які інструментальні методи використовують для ідентифікації нематод-збудників хвороб рослин?
93. Опишіть етапи діагностики грибної хвороб яблуні на прикладі чорного раку, та методи, які б вами використовувалися.
94. Опишіть етапи діагностики грибної хвороби пшениці на прикладі фузаріозу колоса та методи, які будуть використовуватися.

95. Опишіть етапи та методи досимптомної діагностики прикореневої гнилі пшениці на прикладі церкоспорельозу.
96. Опишіть етапи та методи діагностики вірусної хвороби рослини на прикладі ризоманії цукрового буряка.
97. Опишіть етапи та методи діагностики бактеріальної хвороби рослини на прикладі звичайної парші картоплі.
98. Опишіть етапи та методи діагностики віроїдної хвороби рослини на прикладі веретеноподібності бульб картоплі.
99. Опишіть етапи та методи діагностики нематодозу рослини на прикладі гетеродерозу цукрового буряка.
100. Опишіть етапи та методи діагностики мікоплазмозу рослини на прикладі стовбура томатів.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Б а з о в а	1. Сиволоб А.В. Молекулярна біологія. Підручник. Київ: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2008. 384 с. 2. Довідник із захисту рослин / За ред. М.П. Лісового. Київ: Урожай, 1999. 3. . Довідник по захисту польових культур / За ред. В.П. Васильєва. Київ: Урожай, 1993. 4. Захист зернових культур від шкідників, хвороб і бур'янів при інтенсивних технологіях / За ред. В.А. Арешнікова. Київ: Урожай, 1992. 5. Міщенко Л.Т. Вірусні хвороби озимої пшениці. Київ: Фітосоціоцентр, 2009. 352 с.	Д о д а т к о в а	1. Agrios G. Plant pathology. 5-th ed. ELSEVIER Academic Press. 2005.948p. 2. Deacon J.W. Fungal Biology. Blackwell Publishing. 2006. 380 p. 3. Bioinformatics and data analysis in microbiology / ed. O. Bishop. Caister Academic Press, 2014. 248p. 4. Карантин і захист рослин / http://archive.nbuv.gov.ua/Portal/chem_biol/Kizr/
----------------------------	---	---	--

СИСТЕМА ОЦІНЮВАННЯ

Розподіл балів для оцінювання успішності аспіранта	Сума балів за всі види навчальної діяльності	Оцінка ECTS	Оцінка за національною шкалою
	90-100	A	відмінно
	82-89	B	добре
	74-81	C	
	64-73	D	
	60-63	E	задовільно
	35-59	FX	
	0-34	F	
			незадовільно з можливістю повторного складання
			незадовільно з обов'язковим повторним вивченням дисципліни

НОРМИ АКАДЕМІЧНОЇ ЕТИКИ

Аспірант повинен дотримуватися «Кодексу академічної доброчесності ІБКІЦБ НААН», виявляти дисциплінованість, вихованість, доброзичливість, чесність, відповідальність. Конфліктні ситуації повинні відкрито обговорюватися з викладачем, а при нерозв'язності конфлікту доводиться до відділу аспірантури

Силабус за змістом повністю відповідає робочій програмі навчальної дисципліни