

**Методы экспериментальной  
микологии**

**Справочник**

Москва  
«Книга по Требованию»

УДК 57  
ББК 28  
М54

М54      Методы экспериментальной микологии: Справочник / – М.: Книга по Требованию, 2014. – 552 с.

**ISBN 978-5-458-27224-7**

**ISBN 978-5-458-27224-7**

© Издание на русском языке, оформление  
«YOYO Media», 2014

© Издание на русском языке, оцифровка,  
«Книга по Требованию», 2014

Эта книга является репринтом оригинала, который мы создали специально для Вас, используя запатентованные технологии производства репринтных книг и печати по требованию.

Сначала мы отсканировали каждую страницу оригинала этой редкой книги на профессиональном оборудовании. Затем с помощью специально разработанных программ мы произвели очистку изображения от пятен, клякс, перегибов и попытались отбелить и выровнять каждую страницу книги. К сожалению, некоторые страницы нельзя вернуть в изначальное состояние, и если их было трудно читать в оригинале, то даже при цифровой реставрации их невозможно улучшить.

Разумеется, автоматизированная программная обработка репринтных книг – не самое лучшее решение для восстановления текста в его первозданном виде, однако, наша цель – вернуть читателю точную копию книги, которой может быть несколько веков.

Поэтому мы предупреждаем о возможных погрешностях восстановленного репринтного издания. В издании могут отсутствовать одна или несколько страниц текста, могут встретиться невыводимые пятна и кляксы, надписи на полях или подчеркивания в тексте, нечитаемые фрагменты текста или загибы страниц. Покупать или не покупать подобные издания – решать Вам, мы же делаем все возможное, чтобы редкие и ценные книги, еще недавно утраченные и несправедливо забытые, вновь стали доступными для всех читателей.



Серия Книжный Ренессанс

[www.samizday.ru/reprint](http://www.samizday.ru/reprint)



## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Предисловие . . . . .                                                          | 3         |
| Принятые сокращения . . . . .                                                  | 23        |
| <b>I. Изучение элементов морфологии грибов . . . . .</b>                       | <b>25</b> |
| I.1. Общие сведения ( <i>И. А. Дудка</i> ) . . . . .                           | 25        |
| I.2. Низшие грибы . . . . .                                                    | 25        |
| I.2.1. Класс Chytridiomycetes . . . . .                                        | 25        |
| I.2.1.1. Элементы морфологии таллома . . . . .                                 | 25        |
| I.2.1.2. Бесполое размножение . . . . .                                        | 28        |
| I.2.1.3. Половое размножение . . . . .                                         | 29        |
| I.2.1.4. Чередование циклов полового и бесполого размножения . . . . .         | 29        |
| I.2.2. Класс Nyrhochytriomycetes . . . . .                                     | 30        |
| I.2.2.1. Элементы морфологии таллома . . . . .                                 | 30        |
| I.2.2.2. Бесполое размножение . . . . .                                        | 30        |
| I.2.2.3. Половое размножение . . . . .                                         | 30        |
| I.2.3. Класс Oomycetes . . . . .                                               | 30        |
| I.2.3.1. Элементы морфологии таллома, бесполое и половое размножение . . . . . | 30        |
| I.2.4. Класс Zygomycetes . . . . .                                             | 36        |
| I.2.4.1. Элементы морфологии таллома . . . . .                                 | 36        |
| I.2.4.2. Бесполое размножение . . . . .                                        | 37        |
| I.2.4.3. Половое размножение . . . . .                                         | 38        |
| I.2.5. Класс Trichomycetes . . . . .                                           | 39        |
| I.2.5.1. Элементы морфологии таллома . . . . .                                 | 39        |
| I.2.5.2. Бесполое размножение . . . . .                                        | 39        |
| I.2.5.3. Половое размножение . . . . .                                         | 39        |
| I.3. Высшие грибы . . . . .                                                    | 40        |
| I.3.1. Класс Ascomycetes . . . . .                                             | 40        |
| I.3.1.1. Элементы морфологии плодовых тел . . . . .                            | 40        |
| I.3.1.2. Половое размножение . . . . .                                         | 41        |
| I.3.1.3. Бесполое размножение . . . . .                                        | 42        |
| I.3.2. Класс Basidiomycetes ( <i>С. П. Вассер</i> ) . . . . .                  | 42        |
| I.3.2.1. Плодовые тела (карпофоры, спорофоры, базидиофоры) . . . . .           | 43        |
| I.3.2.2. Морфология примордиев и развитие плодовых тел . . . . .               | 43        |
| I.3.2.3. Морфология шляпки . . . . .                                           | 45        |
| I.3.2.4. Морфология покровов . . . . .                                         | 45        |
| I.3.2.5. Морфология мякоти шляпок . . . . .                                    | 45        |

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| I.3.2.6. Морфология и структура гиф . . . . .                              | 47 |
| I.3.2.7. Морфология и структура гименофора . . . . .                       | 49 |
| I.3.2.8. Микроскопирование гимениального слоя . . . . .                    | 51 |
| I.3.2.9. Базидии . . . . .                                                 | 51 |
| I.3.2.10. Базидиоспоры и другие спороношения . . . . .                     | 54 |
| I.3.2.11. Цистиды . . . . .                                                | 56 |
| I.3.2.12. Ножка . . . . .                                                  | 56 |
| I.3.2.13. Макро- и микроскопические химические цветочные реакции . . . . . | 59 |
| I.3.3. Класс <i>Deuteromycetes</i> (И. А. Элланская) . . . . .             | 59 |
| I.3.3.1. Общие сведения . . . . .                                          | 59 |
| I.3.3.2. Органы размножения . . . . .                                      | 61 |
| I.3.3.3. Конидии . . . . .                                                 | 68 |
| I.3.3.4. Онтогенез конидий . . . . .                                       | 71 |
| I.3.3.5. Пигментация конидий и конидиеносцев . . . . .                     | 73 |
| I.3.3.6. Мицелий . . . . .                                                 | 74 |
| I.3.3.7. Колония . . . . .                                                 | 75 |

## II. Микроскопическое изучение грибов (Э. З. Коваль, Л. Т. Горбик) 76

|                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| II.1. Световая микроскопия . . . . .                                                       | 76  |
| II.1.1. Общие сведения . . . . .                                                           | 76  |
| II.1.2. Основные правила работы с микроскопом . . . . .                                    | 76  |
| II.1.2.1. Микроскопирование с сухими и иммерсионными системами . . . . .                   | 77  |
| II.1.2.2. Микроскопия в темном поле . . . . .                                              | 77  |
| II.1.2.3. Рисовальный аппарат . . . . .                                                    | 78  |
| II.1.2.4. Измерение объектов при микроскопии . . . . .                                     | 78  |
| II.1.3. Подготовка материала для исследований в световом микроскопе . . . . .              | 80  |
| II.1.3.1. Подсчет конидий . . . . .                                                        | 80  |
| II.1.4. Изучение объектов в живом состоянии и приготовление временных препаратов . . . . . | 81  |
| II.1.4.1. Метод раздавленной капли . . . . .                                               | 81  |
| II.1.5. Изучение фиксированных препаратов . . . . .                                        | 83  |
| II.1.5.1. Методы фиксации . . . . .                                                        | 83  |
| II.1.5.2. Основные красители . . . . .                                                     | 83  |
| II.1.5.3. Дифференциальное окрашивание содержимого гиф грибов . . . . .                    | 84  |
| II.1.5.4. Специальные методы окрашивания . . . . .                                         | 84  |
| II.2. Люминесцентная микроскопия . . . . .                                                 | 92  |
| II.2.1. Общие сведения . . . . .                                                           | 92  |
| II.2.2. Подготовка препаратов . . . . .                                                    | 92  |
| II.2.2.1. Флюорохромирование живых препаратов . . . . .                                    | 92  |
| II.2.2.2. Флюорохромирование фиксированных препаратов . . . . .                            | 92  |
| II.2.2.3. Прямое флюорохромирование клеточных структур . . . . .                           | 95  |
| II.2.2.4. Определение количества мертвых клеток . . . . .                                  | 96  |
| II.3. Электронная микроскопия . . . . .                                                    | 97  |
| II.3.1. Общие сведения . . . . .                                                           | 97  |
| II.3.2. Подготовка препаратов . . . . .                                                    | 97  |
| II.3.2.1. Размещение пленок-подложек на сетках . . . . .                                   | 99  |
| II.3.2.2. Приготовление суспензий, содержащих объект исследования . . . . .                | 99  |
| II.3.2.3. Высушивание препаратов . . . . .                                                 | 103 |
| II.3.2.4. Напыление объектов . . . . .                                                     | 103 |

|                                                                                                                                                                                   |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| II.3.2.5. Приготовление срезов на ультрамикротоме . . . . .                                                                                                                       | 104        |
| II.3.2.6. Метод отпечатков Пфистерера . . . . .                                                                                                                                   | 104        |
| II.3.3. Изучение грибов в тканях растений . . . . .                                                                                                                               | 105        |
| <b>III. Культивирование микроскопических грибов (Е. А. Николь-<br/>ская) . . . . .</b>                                                                                            | <b>106</b> |
| III.1. Общие сведения . . . . .                                                                                                                                                   | 106        |
| III.2. Условия, необходимые для роста грибов . . . . .                                                                                                                            | 106        |
| III.2.1. Питательные среды . . . . .                                                                                                                                              | 107        |
| III.2.1.1. Стерилизация питательных сред . . . . .                                                                                                                                | 109        |
| III.3. Подготовка и хранение посевного материала некоторых гри-<br>бов . . . . .                                                                                                  | 110        |
| III.3.1. Приготовление посевного материала для ферментации<br>«тепрых» выращиванием <i>Rhizopus oligosporus</i> на рисе . . . . .                                                 | 111        |
| III.3.2. Подготовка посевного материала для получения грибного<br>солода из культуры <i>Aspergillus oryzae</i> . . . . .                                                          | 111        |
| III.3.3. Подготовка посевного материала гриба <i>Dendrodochium</i><br><i>toxicum</i> на соломенной смеси . . . . .                                                                | 111        |
| III.3.4. Подготовка посевного материала для получения глюкозо-<br>оксидазы и каталазы из культуры <i>Penicillium vitale</i> Pi-<br>dopl. et Bilai (штамм 1312/140 IV—V) . . . . . | 112        |
| III.3.4.1. Подготовка посевного материала <i>P. vitale</i> на просе . . . . .                                                                                                     | 112        |
| III.3.4.2. Подготовка посевного материала <i>P. vitale</i> на пшене . . . . .                                                                                                     | 112        |
| III.3.5. Способы подготовки посевного материала грибов рода<br><i>Aspergillus</i> . . . . .                                                                                       | 115        |
| III.3.6. Контроль посевного материала . . . . .                                                                                                                                   | 116        |
| III.3.6.1. Микробиологический контроль . . . . .                                                                                                                                  | 116        |
| III.3.6.2. Биохимический контроль . . . . .                                                                                                                                       | 116        |
| III.3.6.3. Определение всхожести спор . . . . .                                                                                                                                   | 116        |
| III.3.7. Хранение посевного материала . . . . .                                                                                                                                   | 117        |
| III.4. Культивирование грибов . . . . .                                                                                                                                           | 117        |
| III.4.1. Поверхностное культивирование . . . . .                                                                                                                                  | 117        |
| III.4.1.1. Культивирование на плотных неагаризованных средах . . . . .                                                                                                            | 117        |
| III.4.1.2. Культивирование на стандартных агаризованных средах . . . . .                                                                                                          | 119        |
| III.4.2. Погруженное, или глубинное, культивирование . . . . .                                                                                                                    | 122        |
| III.4.2.1. Культивирование в сосудах, встряхиваемых на поступа-<br>тельной или вращательной качалке . . . . .                                                                     | 123        |
| III.4.2.2. Культивирование с барботажем через среду воздуха без<br>механического перемешивания . . . . .                                                                          | 124        |
| III.4.2.3. Культивирование с барботажем через среду воздуха и<br>механическим перемешиванием . . . . .                                                                            | 124        |
| III.4.2.4. Факторы, определяющие направленность ферментацион-<br>ного процесса . . . . .                                                                                          | 126        |
| III.4.2.5. Контроль процесса ферментации . . . . .                                                                                                                                | 127        |
| III.4.3. Непрерывное культивирование . . . . .                                                                                                                                    | 128        |
| III.4.3.1. Гомогенные открытые системы . . . . .                                                                                                                                  | 130        |
| III.4.3.2. Гетерогенные открытые системы . . . . .                                                                                                                                | 132        |
| III.4.3.3. Замкнутые системы . . . . .                                                                                                                                            | 133        |
| III.4.3.4. Полунепрерывные системы . . . . .                                                                                                                                      | 134        |
| III.4.3.5. Практическое применение методов непрерывного куль-<br>тивирования грибов . . . . .                                                                                     | 134        |

|                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>IV. Определение роста и биосинтетической активности грибов</b><br>(В. И. Билай)          | 138 |
| IV.1. Общие сведения                                                                        | 138 |
| IV.2. Морфологические параметры роста гифальных грибов                                      | 139 |
| IV.3. Фазы роста грибов                                                                     | 141 |
| IV.4. Определение роста грибов                                                              | 142 |
| IV.4.1. Измерение линейного роста колоний                                                   | 142 |
| IV.4.2. Измерение плотности гиф колонии                                                     | 144 |
| IV.4.3. Измерение размеров клеток гиф колонии                                               | 145 |
| IV.4.4. Исследование морфологических и цитологических изменений клеток гиф растущей колонии | 145 |
| IV.4.5. Определение роста по сухой массе мицелия                                            | 145 |
| IV.4.6. Метод микрокультуры                                                                 | 146 |
| IV.4.7. Определение роста по объему и числу клеток                                          | 146 |
| IV.4.8. Определение интенсивности спорообразования                                          | 146 |
| IV.5. Определение биосинтетической активности грибов                                        | 147 |
| IV.5.1. Некоторые математические модели роста и биосинтеза                                  | 147 |
| IV.5.2. Влияние продуктов метаболизма на скорость роста                                     | 152 |
| IV.5.3. Кинетические модели роста грибов                                                    | 152 |
| IV.5.3.1. Единица гифального роста                                                          | 152 |
| IV.5.3.2. Скорость роста колонии                                                            | 154 |
| IV.6. Определение количественных показателей биосинтетической активности грибов             | 154 |
| IV.6.1. Экономический коэффициент                                                           | 155 |
| IV.6.2. Метаболический коэффициент                                                          | 156 |
| IV.6.3. Изучение метаболизма в клетках и их структурах                                      | 156 |
| IV.6.3.1. Методы разрушения грибной клетки                                                  | 157 |
| IV.6.3.2. Фракционирование субклеточных фракций                                             | 157 |
| IV.6.3.3. Дифференциальное центрифугирование                                                | 158 |
| IV.6.3.4. Седиментационный анализ и другие методы контроля субклеточных фракций             | 159 |
| IV.6.3.5. Ферментные методы контроля субклеточных фракций                                   | 160 |
| IV.6.3.6. Метод ингибиторов                                                                 | 161 |
| IV.6.3.7. Метод мутантов                                                                    | 162 |
| IV.6.3.8. Метод радиоактивных изотопов                                                      | 163 |
| IV.6.3.9. Метод радиографии                                                                 | 163 |
| <b>V. Определение активности ферментов грибов</b><br>(Т. И. Билай)                          | 165 |
| V.1. Краткая характеристика и общие принципы изучения ферментов                             | 165 |
| V.1.1. Типы специфичности ферментов                                                         | 165 |
| V.1.2. Классификация ферментов                                                              | 166 |
| V.1.3. Единицы активности ферментов                                                         | 166 |
| V.1.4. Скорость ферментативных реакций                                                      | 167 |
| V.1.4.1. Зависимость скорости от времени                                                    | 167 |
| V.1.4.2. Влияние температуры                                                                | 167 |
| V.1.4.3. Влияние pH                                                                         | 167 |
| V.1.5. Определение константы Михаэлиса                                                      | 168 |
| V.1.6. Определение ферментативной активности                                                | 169 |
| V.1.6.1. Химические методы                                                                  | 169 |
| V.1.6.2. Поляриметрические методы                                                           | 169 |
| V.1.6.3. Газометрические методы                                                             | 170 |

|                                                                                                                           |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| V.1.6.4. Вискозиметрические методы . . . . .                                                                              | 170 |
| V.1.6.5. Хроматографические методы . . . . .                                                                              | 170 |
| V.1.6.6. Спектрофотометрические методы . . . . .                                                                          | 170 |
| V.2. Выделение и очистка ферментов . . . . .                                                                              | 171 |
| V.2.1. Некоторые общие принципы работы с ферментами . . . . .                                                             | 171 |
| V.2.2. Выделение ферментов . . . . .                                                                                      | 171 |
| V.2.3. Очистка ферментов . . . . .                                                                                        | 172 |
| V.2.3.1. Фракционное осаждение органическими растворителями . . . . .                                                     | 173 |
| V.2.3.2. Фракционное осаждение солями . . . . .                                                                           | 173 |
| V.2.3.3. Адсорбция . . . . .                                                                                              | 174 |
| V.2.3.4. Жидкостная хроматография . . . . .                                                                               | 174 |
| V.2.3.5. Аффинная хроматография . . . . .                                                                                 | 174 |
| V.2.3.6. Изoeлектрическое фокусирование . . . . .                                                                         | 174 |
| V.3. Определение активности пероксидазы, каталазы, глюкозо-<br>оксидазы (В. Н. Борисова) . . . . .                        | 175 |
| V.3.1. Ферменты — активаторы кислорода. Общие сведения . . . . .                                                          | 175 |
| V.3.2. Оксидазные тесты . . . . .                                                                                         | 176 |
| V.3.3. Определение активности пероксидазы . . . . .                                                                       | 177 |
| V.3.4. Определение активности каталазы . . . . .                                                                          | 178 |
| V.3.5. Экспресс-метод определения активности глюкозооксидазы . . . . .                                                    | 179 |
| V.4. Определение активности целлюлаз (В. С. Сиверс, Е. Г. Му-<br>сич, Ю. В. Лизак) . . . . .                              | 180 |
| V.4.1. Общие сведения . . . . .                                                                                           | 180 |
| V.4.2. Качественные методы определения целлюлаз . . . . .                                                                 | 182 |
| V.4.2.1. Визуальное определение роста грибов на фильтровальной<br>бумаге . . . . .                                        | 182 |
| V.4.2.2. Определение состава сахаров в культуральной жидкости<br>грибов методом круговой бумажной хроматографии . . . . . | 182 |
| V.4.2.3. Образование зон просветления натрийкарбоксиметилцел-<br>люлозного агара (Na-KMЦ) . . . . .                       | 183 |
| V.4.2.4. Определение слоя разжижения геля Na-KMЦ . . . . .                                                                | 184 |
| V.4.3. Количественные методы определения целлюлаз . . . . .                                                               | 184 |
| V.4.3.1. Определение активности $C_1$ -фермента . . . . .                                                                 | 184 |
| V.4.3.2. Определение глубины осахаривания хлопка при длитель-<br>ной инкубации . . . . .                                  | 185 |
| V.4.3.3. Определение активности $C_1$ -компонента целлюлазы по<br>осахариванию фильтровальной бумаги . . . . .            | 185 |
| V.4.3.4. Определение активности $C_x$ -ферментов . . . . .                                                                | 185 |
| V.4.3.5. Осахаривающая способность $C_x$ -ферментов . . . . .                                                             | 185 |
| V.4.3.6. Эндоглюканазная активность $C_x$ -ферментов . . . . .                                                            | 186 |
| V.4.3.7. Определение $\beta$ -глюкозидазной активности . . . . .                                                          | 186 |
| V.4.4. Определение сахаров . . . . .                                                                                      | 186 |
| V.4.4.1. Определение редуцирующих сахаров методом Шомоды —<br>Нельсона . . . . .                                          | 186 |
| V.4.4.2. Определение редуцирующих сахаров ортотолуидиновым<br>реактивом . . . . .                                         | 187 |
| V.4.4.3. Определение глюкозы глюкозооксидазным методом . . . . .                                                          | 187 |
| V.5. Определение активности ксиланаз (А. Я. Стрижевская) . . . . .                                                        | 188 |
| V.5.1. Общие сведения . . . . .                                                                                           | 188 |
| V.5.2. Качественные методы определения ксиланаз . . . . .                                                                 | 189 |
| V.5.3. Количественные методы определения ксиланаз . . . . .                                                               | 189 |
| V.5.3.1. Определение ксилозы методом Серенсена . . . . .                                                                  | 190 |
| V.6. Определение активности пектолитических ферментов<br>(В. Л. Айзенберг) . . . . .                                      | 191 |
| V.6.1. Общие сведения . . . . .                                                                                           | 191 |

|                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| V.6.2. Качественные методы определения пектиназ . . . . .                                                   | 191 |
| V.6.2.1. Определение наличия пектолитических ферментов мацерацией растительной ткани . . . . .              | 192 |
| V.6.2.2. Определение активности пектолитических ферментов по степени роста грибов . . . . .                 | 192 |
| V.6.3. Количественные методы определения пектолитических ферментов . . . . .                                | 192 |
| V.6.3.1. Определение активности пектинэстеразы . . . . .                                                    | 193 |
| V.6.3.2. Определение совместного действия пектинэстеразы и полигалактуроназ . . . . .                       | 193 |
| V.6.3.3. Определение экзополигалактуроназной активности . . . . .                                           | 195 |
| V.6.3.4. Определение активности разжижающей эндополигалактуроназы . . . . .                                 | 196 |
| V.7. Определение активности некоторых ферментов, расщепляющих сахарозу ( <i>Л. М. Кириллова</i> ) . . . . . | 197 |
| V.7.1. Общие сведения . . . . .                                                                             | 197 |
| V.7.2. Качественное определение продуктов расщепления сахарозы . . . . .                                    | 198 |
| V.7.2.1. Определение редуцирующих веществ в фильтратах культуральной жидкости . . . . .                     | 198 |
| V.7.2.2. Определение сахаров в реакционной смеси после инкубации с отмытым мицелием . . . . .               | 199 |
| V.7.3. Количественные методы определения активности ферментов . . . . .                                     | 199 |
| V.7.3.1. Определение активности инвертазы . . . . .                                                         | 199 |
| V.7.3.2. Определение активности сахарозофосфоорилазы (сахарозоглюкозилтрансферазы) . . . . .                | 201 |
| V.7.3.3. Определение активности декстрансахаразы и амилосахаразы . . . . .                                  | 201 |
| V.7.3.4. Определение активности левансахаразы и инулазы . . . . .                                           | 202 |
| V.8. Определение активности нуклеаз ( <i>С. И. Безбородова</i> ) . . . . .                                  | 202 |
| V.8.1. Общие сведения . . . . .                                                                             | 202 |
| V.8.2. Среды для выращивания продуцентов нуклеаз . . . . .                                                  | 204 |
| V.8.3. Определение активности рибонуклеаз . . . . .                                                         | 205 |
| V.8.4. Определение активности нуклеаз, включая ДНКазы . . . . .                                             | 205 |
| V.8.4.1. Нефелометрический метод определения нуклеаз . . . . .                                              | 206 |
| V.9. Определение активности протеаз ( <i>Т. И. Билай</i> ) . . . . .                                        | 207 |
| V.9.1. Определение протеолитических свойств грибов при первичном отборе . . . . .                           | 207 |
| V.9.1.1. Определение желатиназных свойств . . . . .                                                         | 207 |
| V.9.1.2. Определение казеинолитических свойств . . . . .                                                    | 208 |
| V.9.1.3. Определение альбуминазной активности . . . . .                                                     | 208 |
| V.9.1.4. Определение гемолитических свойств . . . . .                                                       | 208 |
| V.9.1.5. Определение фибринолитических свойств . . . . .                                                    | 209 |
| V.9.2. Определение молокосвертывающей активности . . . . .                                                  | 209 |
| V.9.3. Вискозиметрический метод определения протеаз . . . . .                                               | 209 |
| V.9.4. Метод формольного титрования . . . . .                                                               | 210 |
| V.9.5. Метод определения активности протеаз по приросту азотного азота . . . . .                            | 210 |
| V.9.6. Спектрофотометрический метод определения активности протеаз . . . . .                                | 211 |
| V.10. Ферменты углеводного обмена ( <i>А. М. Зайченко</i> ) . . . . .                                       | 212 |
| V.10.1. Общие сведения . . . . .                                                                            | 212 |
| V.10.2. Краткая характеристика основных путей метаболизма углеводов . . . . .                               | 213 |

|                                                                                                 |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| V.10.2.1. Гликолитический путь . . . . .                                                        | 213        |
| V.10.2.2. Пентозофосфатный путь . . . . .                                                       | 214        |
| V.10.2.3. Цикл трикарбоновых кислот . . . . .                                                   | 216        |
| V.10.2.4. Глиоксилатный цикл . . . . .                                                          | 217        |
| V.10.3. Определение активности ферментов углеводного обмена . . . . .                           | 218        |
| V.10.3.1. Культивирование грибов . . . . .                                                      | 219        |
| V.10.3.2. Подготовка мицелия . . . . .                                                          | 219        |
| V.10.3.3. Дезинтеграция мицелия . . . . .                                                       | 219        |
| V.10.3.4. Получение бесклеточных экстрактов . . . . .                                           | 220        |
| V.10.3.5. Методы определения активности некоторых ферментов . . . . .                           | 220        |
| <b>VI. Определение аминокислот и белка у грибов . . . . .</b>                                   | <b>225</b> |
| VI.1. Определение аминокислот ( <i>Л. А. Загордонец</i> ) . . . . .                             | 225        |
| VI.1.1. Общие сведения . . . . .                                                                | 225        |
| VI.1.2. Метод распределительной хроматографии на бумаге . . . . .                               | 228        |
| VI.1.2.1. Бумага . . . . .                                                                      | 228        |
| VI.1.2.2. Растворители . . . . .                                                                | 228        |
| VI.1.2.3. Хроматографические камеры . . . . .                                                   | 229        |
| VI.1.2.4. Определение значений R <sub>f</sub> аминокислот . . . . .                             | 230        |
| VI.1.2.5. Метчики . . . . .                                                                     | 230        |
| VI.1.2.6. Техника хроматографирования . . . . .                                                 | 230        |
| VI.1.2.7. Проявители . . . . .                                                                  | 231        |
| VI.1.3. Подготовка исследуемого материала для хроматографического анализа . . . . .             | 232        |
| VI.1.3.1. Экстракция свободных аминокислот из мицелия . . . . .                                 | 232        |
| VI.1.3.2. Связанные аминокислоты мицелия . . . . .                                              | 233        |
| VI.1.3.3. Выделение и очистка фракции свободных аминокислот из культуральной жидкости . . . . . | 233        |
| VI.1.4. Определение аминного азота . . . . .                                                    | 234        |
| VI.1.5. Хроматографическое разделение аминокислот и их количественное определение . . . . .     | 235        |
| VI.1.5.1. Количественное определение аминокислот . . . . .                                      | 235        |
| VI.1.5.2. Определение пролина . . . . .                                                         | 236        |
| VI.1.5.3. Определение метионина . . . . .                                                       | 236        |
| VI.1.5.4. Определение триптофана . . . . .                                                      | 236        |
| VI.2. Определение белков ( <i>Т. Я. Метейко</i> ) . . . . .                                     | 237        |
| VI.2.1. Тонкослойная хроматография . . . . .                                                    | 237        |
| VI.2.2. Электрофорез . . . . .                                                                  | 240        |
| VI.2.2.1. Подготовка мицелия . . . . .                                                          | 241        |
| VI.2.2.2. Приготовление буферных растворов . . . . .                                            | 241        |
| VI.2.3. Электрофорез на бумаге . . . . .                                                        | 242        |
| VI.2.4. Электрофорез в агаровом геле . . . . .                                                  | 242        |
| VI.2.5. Электрофорез в крахмальном геле . . . . .                                               | 243        |
| VI.2.6. Электрофорез в полиакриламидном геле . . . . .                                          | 243        |
| VI.2.7. Определение различных фракций мицелиальных белков . . . . .                             | 248        |
| VI.2.8. Определение белка методом Лоури . . . . .                                               | 249        |
| <b>VII. Определение нуклеотидного фонда грибов (<i>Д. Н. Черменский</i>) . . . . .</b>          | <b>250</b> |
| VII.1. Общие сведения . . . . .                                                                 | 250        |
| VII.2. Ионнообменная хроматография на колонке . . . . .                                         | 251        |
| VII.2.1. Подготовка и регенерация смолы . . . . .                                               | 252        |

|                                                                                                                           |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| VII.2.2. Выделение нуклеотидов из мицелия . . . . .                                                                       | 252        |
| VII.2.3. Колоночная хроматография кислоторастворимых нуклеотидов . . . . .                                                | 253        |
| VII.3. Идентификация нуклеотидов . . . . .                                                                                | 254        |
| VII.3.1. Хроматография . . . . .                                                                                          | 254        |
| VII.3.2. Спектрофотометрия . . . . .                                                                                      | 256        |
| VII.3.3. Количественное определение нуклеотидов . . . . .                                                                 | 256        |
| VII.3.4. Определение положения фосфатной группы . . . . .                                                                 | 257        |
| VII.3.4.1. Хроматография на бумаге . . . . .                                                                              | 257        |
| VII.3.4.2. Реакция с орцином . . . . .                                                                                    | 257        |
| VII.3.4.3. Реакция с карбазолом . . . . .                                                                                 | 258        |
| VII.3.5. Идентификация нуклеотидсахаров . . . . .                                                                         | 258        |
| VII.4. Тонкослойная хроматография как метод изучения нуклеотидного фонда . . . . .                                        | 259        |
| VII.4.1. Микротонкослойная хроматография . . . . .                                                                        | 259        |
| <b>VIII. Определение коферментных витаминов у грибов (С. М. Щербина) . . . . .</b>                                        | <b>261</b> |
| VIII.1. Общие сведения . . . . .                                                                                          | 261        |
| VIII.2. Определение тиамина, биотина, пиридоксина, никотиновой и пантотеновой кислот микробиологическим методом . . . . . | 261        |
| VIII.2.1. Индикаторные культуры . . . . .                                                                                 | 262        |
| VIII.2.2. Приготовление среды для определения витаминов . . . . .                                                         | 262        |
| VIII.2.3. Качественное определение . . . . .                                                                              | 263        |
| VIII.2.4. Количественное определение . . . . .                                                                            | 264        |
| VIII.3. Определение витамина В <sub>12</sub> микробиологическим методом . . . . .                                         | 265        |
| VIII.3.1. Количественное определение . . . . .                                                                            | 266        |
| VIII.3.2. Биоавтографическое определение . . . . .                                                                        | 267        |
| VIII.4. Определение рибофлавина . . . . .                                                                                 | 267        |
| VIII.4.1. Освобождение связанных форм рибофлавина из мицелия и их определение . . . . .                                   | 268        |
| VIII.4.2. Определение рибофлавина в культуральной жидкости . . . . .                                                      | 268        |
| <b>IX. Изучение антибиотических свойств грибов (С. Н. Харченко) . . . . .</b>                                             | <b>263</b> |
| IX.1. Общие сведения . . . . .                                                                                            | 269        |
| IX.2. Выделение грибов-антагонистов из почвы . . . . .                                                                    | 270        |
| IX.2.1. Посев почвенной суспензии на элективные среды . . . . .                                                           | 270        |
| IX.2.2. Метод скученной популяции на агаровой пластинке . . . . .                                                         | 270        |
| IX.2.3. Прямая инокуляция комочками почвы . . . . .                                                                       | 271        |
| IX.2.4. Обогащение почвы . . . . .                                                                                        | 271        |
| IX.3. Изучение антибиотических свойств грибов-антагонистов . . . . .                                                      | 271        |
| IX.3.1. Выбор тест-микроорганизмов . . . . .                                                                              | 271        |
| IX.3.2. Определение антибиотической активности при культивировании на плотных средах . . . . .                            | 271        |
| IX.3.2.1. Метод агаровых блоков . . . . .                                                                                 | 272        |
| IX.3.2.2. Метод двойных пластинок . . . . .                                                                               | 272        |
| IX.3.3. Определение антибиотической активности при культивировании на жидких средах . . . . .                             | 272        |
| IX.3.3.1. Метод бумажных дисков . . . . .                                                                                 | 273        |
| IX.3.3.2. Метод желобка . . . . .                                                                                         | 273        |
| IX.3.3.3. Метод висячей капли . . . . .                                                                                   | 273        |
| IX.4. Количественное определение антибиотической активности . . . . .                                                     | 274        |

|                                                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| IX.4.1. Метод серийных разведений . . . . .                                                                                              | 274 |
| IX.4.1.1. На жидкой среде . . . . .                                                                                                      | 274 |
| IX.4.1.2. На плотной среде . . . . .                                                                                                     | 274 |
| IX.4.2. Метод диффузии в агар . . . . .                                                                                                  | 274 |
| IX.4.2.1. Метод цилиндров . . . . .                                                                                                      | 275 |
| IX.4.2.2. Метод лунок . . . . .                                                                                                          | 275 |
| IX.5. Предварительная идентификация антибиотиков . . . . .                                                                               | 275 |
| IX.5.1. Идентификация по продуценту и спектру антимикробного действия . . . . .                                                          | 275 |
| IX.5.2. Идентификация сборной хроматографией на бумаге . . . . .                                                                         | 276 |
| IX.5.2.1. Метод рН-бумажной хроматографии . . . . .                                                                                      | 277 |
| IX.5.2.2. Метод круговой бумажной хроматографии . . . . .                                                                                | 278 |
| IX.5.3. Идентификация по устойчивым формам микроорганизмов . . . . .                                                                     | 278 |
| IX.5.4. Идентификация по качественным химическим реакциям . . . . .                                                                      | 278 |
| IX.6. Основные приемы выделения антибиотиков . . . . .                                                                                   | 279 |
| IX.7. Отбор противовирусных антибиотиков . . . . .                                                                                       | 279 |
| IX.7.1. Модели вирусов животных . . . . .                                                                                                | 279 |
| IX.7.2. Культура ткани . . . . .                                                                                                         | 280 |
| IX.7.3. Модели растительных вирусов . . . . .                                                                                            | 280 |
| IX.7.4. Модели фагов . . . . .                                                                                                           | 280 |
| IX.8. Отбор противоопухолевых антибиотиков . . . . .                                                                                     | 281 |
| IX.8.1. Чашечный метод . . . . .                                                                                                         | 281 |
| IX.8.2. Использование микробов с пониженным дыханием . . . . .                                                                           | 281 |
| IX.8.3. Использование лабораторных животных . . . . .                                                                                    | 281 |
| IX.9. Биохимическое изучение антибиотиков . . . . .                                                                                      | 282 |
| IX.9.1. Ингибиторы синтеза клеточной оболочки бактерий . . . . .                                                                         | 282 |
| IX.9.1.1. Получение сферопластов из клеток кишечной палочки под действием пенициллина . . . . .                                          | 283 |
| IX.9.1.2. Определение уридинуклеотидов в клетках стафилококка, культивируемого на среде с пенициллином . . . . .                         | 283 |
| IX.9.2. Ингибиторы синтеза белка . . . . .                                                                                               | 283 |
| IX.9.2.1. Действие хлоромицетина на включение в белки аминокислот в бесклеточной системе из кишечной палочки (по Рэнди и Очоа) . . . . . | 284 |
| IX.9.3. Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот . . . . .                                                                                  | 284 |
| IX.9.3.1. Действие актиномицина D на ДНК-полимеразу кишечной палочки . . . . .                                                           | 284 |
| IX.10. Определение антибиотиков в жидкостях организма и других субстратах микробиологическими методами . . . . .                         | 285 |

## **X. Изучение токсинообразующих грибов (В. И. Билай, Э. А. Курбацкая) . . . . . 287**

|                                                                              |     |
|------------------------------------------------------------------------------|-----|
| X.1. Общие сведения . . . . .                                                | 287 |
| X.2. Токсико-микологическое исследование урожая, продуктов, кормов . . . . . | 288 |
| X.2.1. Отбор проб . . . . .                                                  | 288 |
| X.2.2. Органолептический анализ . . . . .                                    | 289 |
| X.2.3. Микологическое исследование кормов . . . . .                          | 289 |
| X.2.3.1. Микроскопия смыва . . . . .                                         | 290 |
| X.2.3.2. Метод накопления . . . . .                                          | 290 |
| X.2.3.3. Выделение грибов из зерна . . . . .                                 | 290 |

|                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Х.2.3.4. Выделение грибов из силоса, жмыха и мучнистых кормов . . . . .                                            | 291 |
| Х.2.4. Определение токсичности зерна, продуктов, кормов, пораженных грибами . . . . .                              | 292 |
| Х.2.4.1. Алиментарная проба на животных . . . . .                                                                  | 292 |
| Х.2.4.2. Кожная проба на кролике . . . . .                                                                         | 292 |
| Х.2.4.3. Глазная проба . . . . .                                                                                   | 294 |
| Х.2.4.4. Проба на бородах кур . . . . .                                                                            | 294 |
| Х.2.4.5. Проба на мышах . . . . .                                                                                  | 294 |
| Х.2.4.6. Химические методы определения токсичности кормов . . . . .                                                | 294 |
| Х.3. Определение токсигенных свойств грибов . . . . .                                                              | 295 |
| Х.3.1. Культивирование грибов . . . . .                                                                            | 295 |
| Х.3.1.1. Культивирование грибов на естественных субстратах . . . . .                                               | 296 |
| Х.3.1.2. Культивирование грибов на жидких питательных средах . . . . .                                             | 296 |
| Х.3.1.3. Изоляция токсических веществ . . . . .                                                                    | 297 |
| Х.3.2. Биологические методы определения токсичности грибов . . . . .                                               | 297 |
| Х.3.2.1. Определение на простейших . . . . .                                                                       | 297 |
| Х.3.2.2. Определение на чувствительных микроорганизмах . . . . .                                                   | 298 |
| Х.3.2.3. Определение на яйцах моллюсков . . . . .                                                                  | 299 |
| Х.3.2.4. Определение на рыбах . . . . .                                                                            | 299 |
| Х.3.2.5. Определение на сердце лягушки . . . . .                                                                   | 300 |
| Х.3.2.6. Определение на эмбрионах птиц . . . . .                                                                   | 300 |
| Х.3.2.7. Определение на клетках культуры тканей . . . . .                                                          | 301 |
| Х.3.2.8. Определение на животных . . . . .                                                                         | 303 |
| Х.3.3. Патологическое действие некоторых микотоксинов . . . . .                                                    | 304 |
| Х.3.3.1. Микотоксины, вызывающие поражение печени или почек в качестве первичного изменения . . . . .              | 305 |
| Х.3.3.2. Микотоксины, вызывающие поражение других органов и тканей . . . . .                                       | 305 |
| Х.3.4. Биохимическое действие микотоксинов . . . . .                                                               | 306 |
| Х.3.4.1. Определение ингибиции синтеза белка клеток животных ниваленолом . . . . .                                 | 306 |
| Х.3.4.2. Ингибиция синтеза макромолекул в опухолевых клетках . . . . .                                             | 307 |
| Х.3.4.3. Ингибиция гликолиза в клетках опухоли . . . . .                                                           | 307 |
| Х.3.4.4. Определение ингибиции синтеза белка токсинами с использованием ретикулоцитов кролика . . . . .            | 307 |
| Х.3.4.5. Действие афлатоксинов на мембраны лизосом . . . . .                                                       | 307 |
| Х.3.5. Химические методы определения микотоксинов . . . . .                                                        | 308 |
| Х.3.6. Хроматографические методы определения микотоксинов . . . . .                                                | 309 |
| Х.3.6.1. Биоавтографическое определение дендродохина методом сборной бумажной хроматографии . . . . .              | 309 |
| Х.3.6.2. Определение афлатоксинов и других микотоксинов методами тонкослойной и колоночной хроматографии . . . . . | 309 |
| Х.3.6.3. Определение афлатоксинов в пораженных субстратах . . . . .                                                | 310 |
| Х.3.6.4. Количественное определение афлатоксинов методами тонкослойной и колоночной хроматографии . . . . .        | 311 |
| Х.3.6.5. Разделение дендродохинов колоночной и тонкослойной хроматографией . . . . .                               | 312 |
| Х.3.6.6. Одновременное определение нескольких микотоксинов . . . . .                                               | 312 |
| Х.3.6.7. Определение эпокситрихотецена Т-2 . . . . .                                                               | 313 |
| Х.3.6.8. Определение зеараленона . . . . .                                                                         | 314 |
| Х.3.6.9. Определение охратоксинов . . . . .                                                                        | 314 |
| Х.3.7. Спектрофотометрический метод . . . . .                                                                      | 314 |