

**ОБЛАСТНАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ ПО БИОЛОГИИ
2017 г. Республика Беларусь**

10 класс

**КАБИНЕТ № 1 АНАТОМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ
(30 баллов)**

АНАТОМИЯ РАСТЕНИЙ (15 баллов)

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются свежие листья Алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.), фрагмент таллома лишайника, микроскоп с двумя объективами – x10, x40 и окуляром – x15, 1 предметное (толщиной 1 мм) и 2 покровных стекла, марлевая салфетка, глазная пипетка, стаканчик с водой (25 – 100 мл), бузина, новое лезвие (в заклеенном бумажном конвертике), препарировальная игла, 3-4 полоски фильтровальной бумаги.

Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Задание 1 (10 баллов). Анатомическое исследование листьев алоэ древовидного.

Материалы, оборудование: свежие листья Алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.), микроскоп с двумя объективами – x10, x40 и окуляром – x15, 1 предметное (толщиной 1 мм) и 2 покровных стекла, марлевая салфетка, глазная пипетка, стаканчик с водой (25 – 100 мл), новое лезвие (в заклеенном бумажном конвертике), препарировальная игла, 3-4 полоски фильтровальной бумаги.

*Листья алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) широко используются как биостимулирующие, регенерирующие и адаптогенные средства. В рамках совершенствования стандартизации лекарственного растительного сырья актуальным является выявление диагностических признаков, относящихся к особенностям анатомии и гистологии растений. Вам предложено установить некоторые морфолого-анатомические признаки листа алоэ древовидного, сделав поперечный разрез через лист, а также сняв нижний эпидермис, после чего разработать критерии диагностики данного лекарственного сырья.*

Задание 1.1 (3,5 балла). Соблюдая осторожность, с помощью лезвия, иглы приготовьте несколько препаратов поперечного среза листа алоэ, отступив примерно 1-2 см от заостренного кончика листа. Поместите полученные препараты в каплю воды на предметное стекло, накрывая покровным. Под микроскопом выберите из нескольких срезов 1–2 лучших, и тщательно изучите анатомическое строение листа, обратив внимание на его характерные особенности.

Поднимите руку и подзовите дежурного преподавателя для оценки среза. За срез можно получить от 0,5 до 1 балла. Оценку в 1 балл ставят за хороший тонкий срез, на котором легко различимы основные анатомические структуры.

Оценка за срез (0,5-1 балла),

подпись преподавателя

Зарисуйте получившийся препарат, сохраняя на рисунке особенности строения тканей, обозначив на нем характерные для листа структуры.

(2,5 балла).

место для рисунка

Задание 1.2 (2,5 балла). Изучение нижнего эпидермиса листа алоэ древовидного.

Соблюдая осторожность, снимите нижний эпидермис с листа, поместите фрагмент в каплю воды на предметное стекло, накройте покровным. Внимательно изучите полученный препарат под микроскопом. Схематично изобразите тип устьичного аппарата и клетки нижнего эпидермиса.

(2 балла)

Место для рисунка

Какой тип устьичного аппарата Вы наблюдаете? (0,5 балла) _____

Задание 1.3. (4 балла, по 0,5 за позицию в строчке). На основе результатов морфолого-анатомических исследований разработайте критерии диагностики листьев алоэ древовидного, позволяющие достоверно идентифицировать лекарственное сырье данного растения. Для этого заполните недостающие фрагменты в тексте.

(0,5) Снаружи лист покрыт _____

(0,5) Эпидерма однослойная, устьица с (сколькими?) _____ околоустьичными клетками, погружены.

(0,5) Мезофилл дифференцирован на (сколько?) _____ зон.

(0,5 балла за полное описание) Опишите эти зоны.

-
-
-
- (0,5) По границе между зонами мезофилла располагаются _____
- (0,5) Проводящие пучки в листе алоэ закрытого/открытого типа (нужное подчеркнуть),
- (0,5) коллатеральные/биколлатеральные/радиальные/концентрические (нужное подчеркнуть).
- (0,5) Игольчатые кристаллы оксалата кальция (рафиды) имеются/отсутствуют (нужное подчеркнуть).

Задание 2 (5 баллов). Морфолого-анатомическое изучение слоевища лишайника Ксантория настенная (*Xanthoria parietina* L.) .

Материалы, оборудование: фрагмент таллома лишайника - Ксантория настенная (*Xanthoria parietina* L.), микроскоп с двумя объективами – x10, x40 и окуляром – x15, 1 предметное (толщиной 1 мм) и 2 покровных стекла, марлевая салфетка, глазная пипетка, стаканчик с водой (25 – 100 мл), новое лезвие (в заклеенном бумажном конвертике), бузина, препарировальная игла, 3-4 полоски фильтровальной бумаги.

Задание 2.1. (2 балла) Изучение морфологических особенностей ксантории настенной.

- (0,5) Внимательно рассмотрите таллом лишайника и определите его морфологический тип. Запишите. _____
- (0,5) Желто-оранжевые дисковидные структуры на поверхности слоевища лишайника свидетельствуют о сумчатом / базидиальном происхождении микобионта (нужное подчеркнуть).
- (0,5+0,5) Цвет лишайника обусловлен наличием желтого пигмента _____, функция которого обеспечить лишайнику _____ (нужное дописать!)

Задание 2.2 (3 балла). Изучение анатомического строения слоевища ксантории настенной.

Соблюдая осторожность, с помощью лезвия и бузины приготовьте несколько препаратов продольного среза слоевища лишайника. Поместите полученные срезы в каплю воды на предметное стекло, накрывая покровным. Под микроскопом выберите из нескольких срезов 1–2 лучших, и тщательно изучите их анатомическое строение, обратив внимание на характерные особенности.

Определите анатомический тип слоевища лишайника, подтвердите схематичным рисунком (0,5 балла), обозначив расположение компонентного состава слоевища лишайника. Сделайте подписи к рисунку (2 балла).

Какой анатомический тип слоевища лишайника Вы наблюдаете? (0,5 балла) _____

Место для рисунка
ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ (15 баллов)

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются: микроскоп, 1М раствор сахарозы, вода, 4 пробирки, препаровальная игла, пипетка Пастера, предметные и покровные стекла, салфетки, фрагмент лука репчатого;

Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Задания нужно выполнять начиная с первого. В течение первого задания будет 15-ти минутный перерыв, во время которого необходимо выполнить задание №2.

Все оборудование после выполнения заданий должно быть оставлено в исходном состоянии.

Задание 1 (11,5 баллов). Осмос и осмотические явления играют важнейшую роль в жизни растений. Величину осмотического давления клеточного сока можно рассчитать, зная некоторые параметры окружающей среды, в которой находятся исследуемые клетки.

1. В пробирках приготовьте по 5 мл 0,9М; 0,7М; 0,5М и 0,3М растворов сахарозы путем разбавления 1М раствора сахарозы дистиллированной водой в соотношениях, указанных ниже в таблице. Пробирки поставьте в штативе в ряд по убывающей концентрации растворов.
2. В каждую пробирку, начиная с высокой концентрации, с интервалом в 2-3 мин поместите с помощью препаровальной иглы по 1 фрагменту окрашенного эпидермиса лука, снятого с выпуклой поверхности чешуи лука. Оптимально, фрагмент должен состоять из одного слоя клеток. Также важно, чтобы полученные фрагменты эпидермиса сразу помещались в необходимый раствор, а не находились длительное время на воздухе!
3. Через 15 минут после погружения срезов эпидермиса в растворы, аккуратно достаньте срезы с помощью препаровальной иглы и рассмотрите их в микроскоп с интервалом в 2-3 мин, начиная с высокой концентрации. Рассматривать срезы необходимо в капле раствора, в котором они находились до этого, используя предметное и покровное стекла.
4. На основании наблюдаемых явлений, заполните таблицу, ответив на следующие вопросы:
(А). (4 балла: по 1 баллу за правильную ячейку) зарисуйте схематически наиболее характерные клетки, которые инкубировались в растворах сахарозы, отобразив на рисунках наблюдаемые типы плазмолиза; подпишите рядом с рисунком название плазмолиза;

(Б). (2,5 балла: по 0,5 баллов за правильную ячейку) впишите в нужные ячейки названия концентраций сахарозы (учитывая их степень (слабо-, сильно-)) по отношению к концентрации клеточного сока клеток эпидермиса лука; здесь должно быть заполнено только 5 из 7 ячеек для тех концентраций сахарозы, которые представляются наиболее важными для выполнения данного задания;

(В). (1 балл) впишите в нужную ячейку значение осмотического давления (с размерностью) клеточного сока клеток эпидермиса лука;

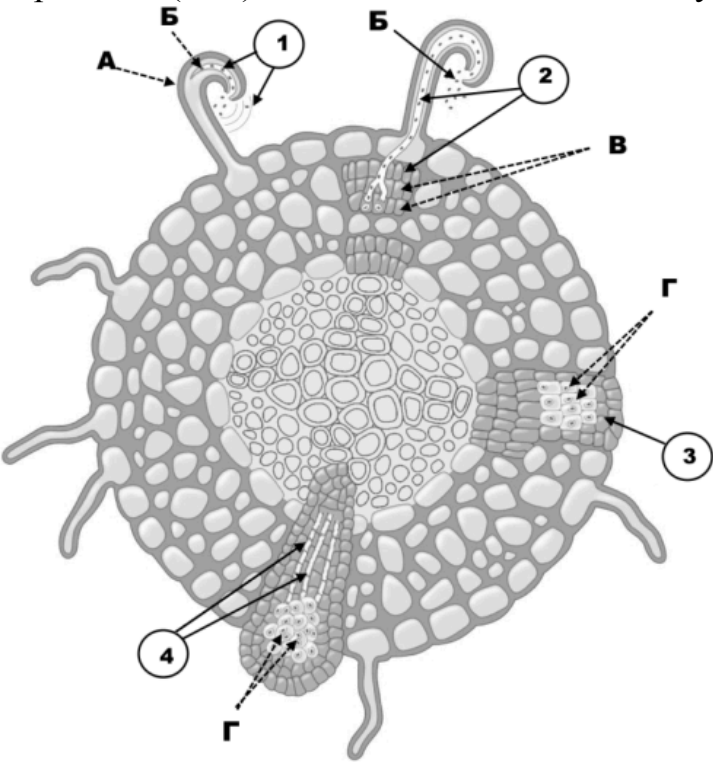
(Г). (3 балла) напишите формулу (с расчетами) по которой можно рассчитать величину осмотического давления клеточного сока клеток эпидермиса лука; дайте название каждой переменной и (или) постоянной в формуле. Принимать универсальную газовую постоянную = 0,082 атм*л/(моль*К). Температуру окружающей среды принимать = 23°C.

[С] сахарозы	На 5мл раствора		Время инкубации срезов		(А) Степень плазмолиза клеток	(Б) Концентрация раствора сахарозы	(В) Р _{осм}
	1М сахара-роза, мл	вода, мл	время погру-жения	время наблюд-ия			
0,9	4,5	0,5					
0,8							
0,7	3,5	1,5					
0,6							
0,5	2,5	2,5					
0,4							

0,3	1,5	3,5					
(Г) Формула с расчетами							

Задание 2 (4,5 балла: по 0,5 за утверждение).

На рисунке представлен поперечный срез одного из органов растения. Дайте общее название явления (процесса), а также опишите как можно лаконичнее стадии этого процесса, происходящие в данном органе (1-4). Назовите компоненты, задействованные в этом процессе (А-Г). Запишите ответы в таблицу.



Общее название явления	
1	
2	
3	
4	
А	
Б	
В	

Г	
----------	--

КАБИНЕТ № 2 БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

(30 баллов)

Продолжительность выполнения задания – 1 час 30 минут

БИОХИМИЯ (15 баллов)

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются 6 глазных пипеток; 6 пенициллиновых флакончиков с реактивами; штатив с 10 пробирками Флоринского; лист белой бумаги (формат А4) в файле; линейка; карандаш; миллиметровая бумага размером 15х15 см.

Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Все оборудование после выполнения заданий должно быть оставлено в исходном состоянии.

Задания можно выполнять в любой последовательности.

Задание 1 (8 баллов). Вам даны три флакона (1, 2, 3), в которых находятся исследуемые пробы. В одном из флаконов находится раствор биополимера **А**, в другом – раствор биополимера **В**, в третьем флаконе находится нейтральный раствор, не содержащий биополимеров.

В других трех флаконах находятся растворы реагентов, содержащие:

- ионы меди Cu^{2+} ;
- ионы свинца Pb^{2+} ;
- I_2 .

Проведите следующий эксперимент:

С помощью пипетки перенесите **по 1 мл** раствора биополимера **А** в 3 отдельные пробирки. Используя пипетки, по отдельности в каждую из 3-х пробирок добавьте только один из растворов, содержащих ионы меди Cu^{2+} , ионы свинца Pb^{2+} и I_2 . Растворы добавляйте **по каплям, после каждой капли для лучшего перемешивания слегка встряхивайте пробирку**. Продолжайте процесс до появления в растворах видимых изменений (например, изменение окраски, выпадение осадка и др.).

Тот же опыт сделайте с раствором биополимера **В** и нейтральным раствором.

Результаты наблюдений впишите в таблицу.

Исследуемый образец	Реагент	Наблюдение
Флакон 1	Cu^{2+}	
	Pb^{2+}	
	I_2	
Флакон 2	Cu^{2+}	
	Pb^{2+}	
	I_2	
Флакон 3	Cu^{2+}	
	Pb^{2+}	
	I_2	

В каких флаконах находятся растворы каких биополимеров:

1 – _____ (1,5 балла)

2 – _____ (1,5 балла)

3 – _____ (0,5 балла)

Обоснуйте

ответ.

Задание 2 (7 баллов). Известно, что многие окрашенные вещества поглощают свет определенной длины волны. Например, оксигемоглобин имеет максимум поглощения при 412 нм. Интенсивность окраски раствора гемоглобина находится в прямой зависимости от его концентрации в растворе, однако эта прямая зависимость может нарушаться при слишком больших концентрациях растворенного окрашенного вещества. Интенсивность окраски раствора (или оптическая плотность) может быть измерена с помощью прибора спектрофотометра или фотоэлектроколориметра.

Имеются значения оптической плотности для растворов оксигемоглобина с разной концентрацией, используя которые вам необходимо построить график, в котором на оси X находится концентрация оксигемоглобина, а на оси Y – значение оптической плотности. При этом часть точек не укладывается в прямую зависимость.

Концентрация оксигемоглобина	Оптическая плотность при 412 нм
1.5 мкмоль/л	0.25
4 мкмоль/л	0.7
5.5 мкмоль/л	0.95
6.5 мкмоль/л	1.15
9.5 мкмоль/л	1.3
11 мкмоль/л	1.4
14 мкмоль/л	1.45
А	0.5
В	0.75
С	1.1

Используя построенный график, определите концентрации оксигемоглобина в растворах А, В и С, если известны их оптические плотности.

А _____ (2 балла) В _____ (2 балла) С _____
_____ (2 балла)

Какие концентрации растворов оксигемоглобина нельзя использовать для определения неизвестной концентрации с помощью графика?

МИКРОБИОЛОГИЯ (15 баллов)

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются 2 предметных стекла, зубочистки, сосуд с 3 %-ным водным раствором гидроксида калия (КОН), сосуд с 3 %-ным раствором перекиси водорода (H_2O_2), 1 чашка Петри с культурой бактерий на поверхности агаризованной питательной среды, штатив с пятью пробирками, в каждой из которых находится столбик полужидкой агаризованной питательной среды.

Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

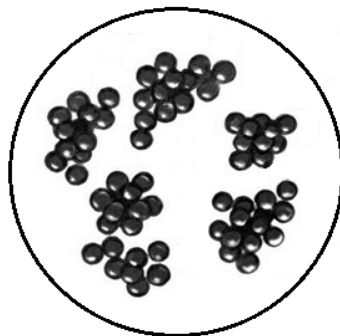
Задания можно выполнять в любой последовательности.

Задание 1 (12 баллов). Идентификация исследуемой бактериальной культуры.

Вам необходимо на основании результатов предложенных тестов и таблицы определить, к какому виду относится бактериальная культура, представленная на поверхности агаризованной питательной среды в чашке Петри.

Внимательно читайте и анализируйте технику и результаты каждого теста!

1.1. Форма клеток. После окрашивания фиксированного мазка бактериальной культуры простым методом с использованием водного раствора фуксина Вы исследовали препарат под микроскопом, в поле зрения которого располагаются скопления мелких округлых клеток красного цвета (рисунок).



1.1.1. Опишите морфологию клеток исследуемых бактерий (Каждый правильный ответ оценивается в 0,5 балла, всего можно получить 1 балл).

Форма одиночных клеток – _____

Форма взаимного расположения клеток – _____

1.2. Грампринадлежность. Для определения грампринадлежности Вам необходимо провести тест Греггера (КОН-тест).

I. Поместите предметное стекло на расположенный ниже черный прямоугольник.

II. На предметное стекло нанесите каплю 3 %-ного водного раствора гидроксида калия (KOH).

III. При помощи зубочистки возьмите небольшое количество культуры исследуемых бактерий с поверхности агаризованной питательной среды в чашке Петри.

IV. Внесите культуру на кончике зубочистки в каплю гидроксида калия на предметном стекле и тщательно ресуспендируйте бактерии круговыми движениями в течение 1 минуты.

V. По истечении времени несколько раз приподнимите зубочистку над каплей гидроксида калия и определите, тянется за зубочисткой тонкая слизистая нить или нет.

1.2.1. Опишите полученный результат (продолжите предложение) (0,5 балла).

За зубочисткой _____.

1.2.2. Для проверки грампринадлежности Вы также провели сложный метод окрашивания клеток исследуемых бактерий по Граму, в результате чего в поле зрения микроскопа Вы увидели такие же скопления клеток, как на рисунке выше, но окрашенные в фиолетовый цвет.

Определите грампринадлежность исследуемых бактерий по результатам теста Греггера и окрашивания по методу Грама (1 балл).

1.3. Подвижность. Для определения подвижности Вам необходимо проанализировать результаты посева исследуемых бактерий в 0,3 %-ную полноценную агаризованную питательную среду (в штативе стоят две пробирки, на которых написано «0,3 % РА»).

Для определения подвижности Вы использовали две пробирки со столбиками 0,3 %-ной полноценной агаризованной питательной среды. В одну пробирку Вы с помощью бактериологической петли уколом засеяли исследуемую культуру бактерий, во вторую пробирку Вы ничего не засевали (контрольная пробирка). Обе пробирки Вы инкубировали в течение 24 часов при оптимальной для бактерий температуре. По

истечении указанного времени Вам необходимо проанализировать полученный результат.

1.3.1. Опишите характер роста исследуемых бактерий (продолжите предложение) (0,5 балла).

В опытной пробирке наблюдается _____.

1.3.2. Определите, подвижны или неподвижны клетки исследуемых бактерий (1 балл). _____.

1.4. Каталазная активность. Выявите каталазную активность.

I. Поместите предметное стекло на расположенный ниже черный прямоугольник.

II. На предметное стекло нанесите каплю 3 %-ного раствора перекиси водорода (H_2O_2).

III. При помощи зубочистки возьмите небольшое количество культуры исследуемых бактерий с поверхности агаризованной питательной среды в чашке Петри.

IV. Внесите культуру на кончике зубочистки в каплю перекиси водорода на предметном стекле и тщательно ресуспендируйте бактерии круговыми движениями.

V. Результаты учитывайте немедленно!

1.4.1. Опишите полученный результат (продолжите предложение) (0,5 балла).
Наблюдается _____

1.4.2. Запишите химическое уравнение, объясняющее полученный результат, со всеми коэффициентами (1 балл). _____

1.5. Оксидазная активность. Для определения оксидазной активности исследуемую бактериальную культуру с поверхности агаризованной питательной среды в чашке Петри Вы ресуспендировали круговыми движениями в течение 1 минуты в капле 1 %-ного раствора дигидрохлоридатетраметил-*n*-фенилендиамина на предметном стекле.

По истечении указанного времени Вы не наблюдали развитие характерной розово-красной окраски суспензии.

1.5.1. Обладают ли исследуемые бактерии оксидазной активностью? (0,5 балла).

1.6. Окислительное (O) или ферментативное (F) образование кислоты из глюкозы (O/F тест, или окислительно-бродильная проба).

Для определения типа расщепления глюкозы Вам необходимо проанализировать результаты посева исследуемых бактерий в полужидкую агаризованную среду Лейфсона, содержащую неорганические соли, источник азота, глюкозу и индикатор (в штативе стоят три пробирки, на которых написано «O/F тест»).

При нейтральных значениях pH данная среда окрашена в зеленый цвет; при подкислении среды, связанном с процессами утилизации глюкозы, она становится желтой.

В две пробирки со средой Лейфсона Вы с помощью бактериологической петли уколом засеяли исследуемую культуру бактерий. Затем на поверхность столбика

агаризованной среды в одной из пробирок для создания анаэробных условий Вы наслоили стерильное вазелиновое масло («анаэробная пробирка»). Другая пробирка осталась в неизменном виде («аэробная пробирка»). В третью пробирку со средой Лейфсона Вы ничего не засевали (контрольная пробирка). Вы инкубировали пробирки в течение 48–72 часов. По истечении указанного времени Вам необходимо проанализировать полученный результат.

1.6.1. Изменился ли цвет питательной среды Лейфсона в обеих опытных пробирках по сравнению с контрольной? Если да, то почему?(1 балл)

1.6.2. Определите тип расщепления глюкозы(1 балл)

1.7. Протеолитическая активность. Для определения протеолитической активности исследуемую бактериальную культуру Вы засевали медальоном на поверхность агаризованной питательной среды, содержащей обезжиренное молоко, в чашке Петри и инкубировали в течение 72 часов при оптимальной для бактерий температуре.

По истечении указанного времени вокруг медальона Вы не зафиксировали оптически прозрачную зону.

1.7.1. Обладают ли бактерии протеолитической активностью? (0,5 балла).

1.8. Амилолитическая активность. Для определения амилолитической активности исследуемую бактериальную культуру Вы засевали медальоном на поверхность агаризованной полноценной питательной среды, содержащей 0,2 % растворимого крахмала, в чашке Петри. Через 72 часа инкубирования на поверхность данной среды в чашке Петри Вы нанесли раствор Люголя и наблюдали окрашивание поверхности питательной среды вокруг медальона в сине-фиолетовый цвет.

1.8.1. Почему поверхность питательной среды вокруг медальона окрасилась в сине-фиолетовый цвет?(1 балл)

1.8.2. Обладают ли бактерии амилолитической активностью? (0,5 балла).

1.9. Идентификация. На основании результатов тестов и анализа данных, предложенных в таблице, определите, к какому виду относится исследуемая бактериальная культура (2 балла)

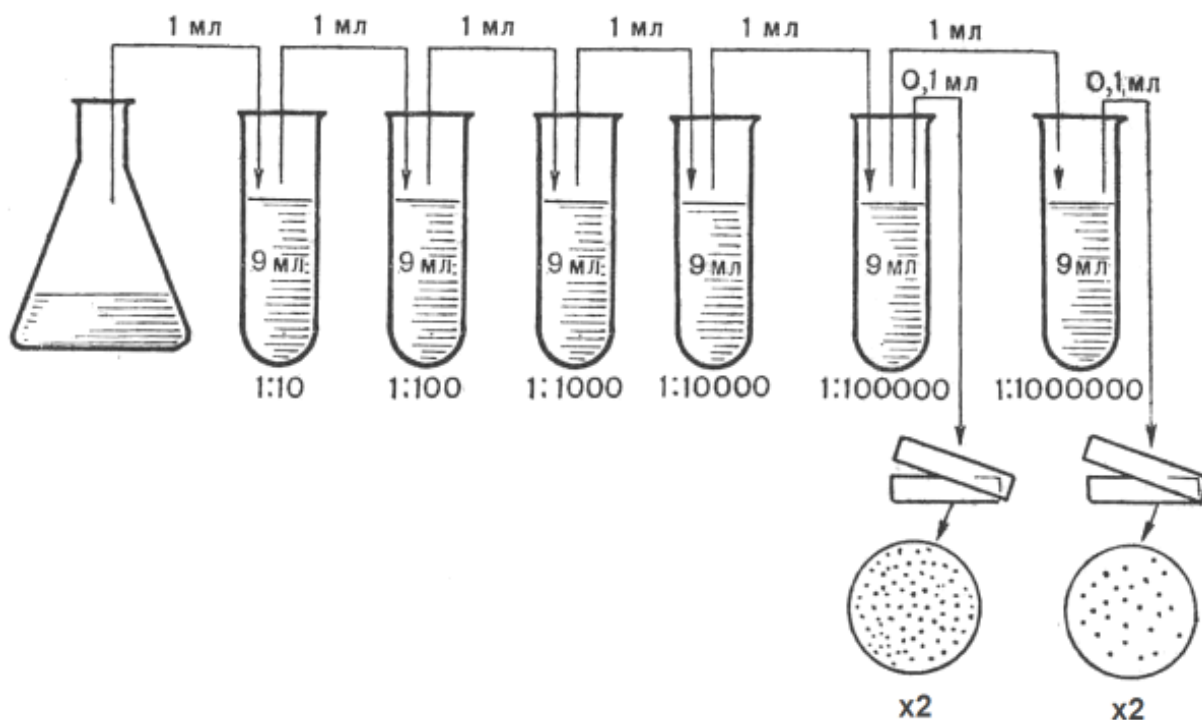
<i>Вид бактерий</i>	Форма клеток	Грамполо- житель- ность	По- дви- жи- мость	Ката- ла- зная ак- тив- ность	Оксид- ная ак- тив- ность	О/ Фтес- т	Протео- литиче- ская ак- тив- ность	Ами- ло- ли- тиче- ская ак- тив- ность
<i>Escherichia coli</i>	П	Г–	+	+	–	F	+	–
<i>Xanthomonas campestris</i>	П	Г–	+	+	–	O	+	–
<i>Pantoea agglomerans</i>	П	Г–	+	+	–	F	–	–
<i>Clavibacter michiganensis</i>	П	Г+	–	+	–	O	–	–
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	К	Г+	–	+	–	F	–	–
<i>Pseudomonas putida</i>	П	Г–	+	+	+	O	+	–
<i>Sarcina lutea</i>	К	Г+	–	+	–	F	+	–
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	П	Г–	+	+	+	O	–	–
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	П	Г–	+	+	+	O	+	–
<i>Bacillus subtilis</i>	П	Г+	+	+	–	F	+	+
<i>Streptococcus lactis</i>	К	Г+	–	–	–	F	+	+

Примечание: «П» или «К» – палочковидная или кокковидная форма клеток; «Г+» или «Г–» – грамположительный или грамотрицательный тип клеточной стенки; «+» или «–» – наличие или отсутствие активности, свойства; «О» или «F» – окислительный или ферментативный тип расщепления глюкозы.

Задание 2 (3 балла). Определение титра клеток и соответствующей фазы роста культуры пивоваренных дрожжей.

2.1. Определите титр клеток на основании результатов последовательного разведения исходной культуры пивоваренных дрожжей с последующим высевом суспензии клеток на поверхность агаризованной питательной среды в чашках Петри.

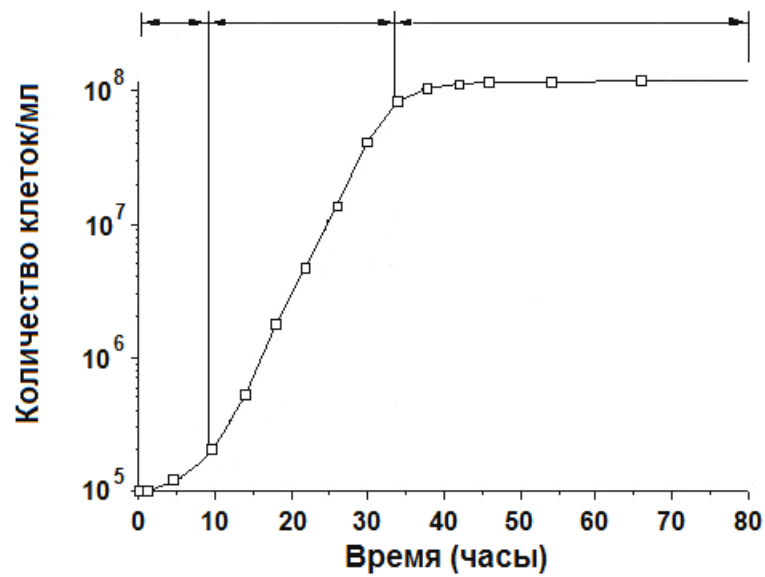
Высев суспензии клеток из разведений на поверхность агаризованных питательных сред в чашках Петри производили согласно схеме, представленной на рисунке.



Высев производили из двух последних пробирок, содержащих 10^{-5} и 10^{-6} клеток, соответственно. Из каждой пробирки производили высеивание параллельно на две чашки Петри. После 24 часов инкубирования чашек Петри в оптимальных условиях производили подсчет числа выросших на агаризованных средах изолированных колоний, исходя из того, что каждая из них – потомство одной клетки.

2.1.1. Определите количество клеток в 1 мл исходной культуры пивоваренных дрожжей, если при высеивании из 5-ой пробирки на средах сформировались 276 и 264 колоний, а при высеивании из 6-ой пробирки – 24 и 30 колоний (1,5 балла).

2.2. Определите фазу роста, в которой находится культура пивоваренных дрожжей, на графике кривой роста, представленном ниже, используя вычисленное Вами количество клеток в 1 мл исходной культуры.



2.2.1. Назовите фазу роста культуры пивоваренных дрожжей (1,5 балла).

КАБИНЕТ № 3 ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ
(30 баллов)

Задание 1: (20 баллов)

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКА
«ЖИРНОСТЬ МОЛОКА» У *Bos taurus* L.**

Материалы и оборудование

1. Молоко гибридов второго поколения (F_{2-1}).	образец № 1
2. Молоко гибридов второго поколения (F_{2-2}).	образец № 2
3. Молоко гибридов второго поколения (F_{2-3}).	образец № 3
4. Молоко гибридов второго поколения (F_{2-4}).	образец № 4
5. Молоко гибридов второго поколения (F_{2-5}).	образец № 5
6. Молоко гибридов анализирующего скрещивания (F_{a-1}).	образец № 6
7. Молоко гибридов анализирующего скрещивания (F_{a-2}).	образец № 7
8. Молоко гибридов анализирующего скрещивания (F_{a-3}).	образец № 8
9. Молоко гибридов анализирующего скрещивания (F_{a-4}).	образец № 9
10. Молоко гибрида второго поколения ($F_{2-???}$).	образец № 10
11. Реактив для определения жирности молока №1	1 шт.
12. Реактив для определения жирности молока №2	1 шт.
13. Вода дистиллированная	1 шт.
14. Прозрачный файл со вставленным белым листом бумаги	1 шт.
15. Пипетки Пастера	13 шт.
16. Деревянные зубочистки	13 шт.
17. Салфетки бумажные	4-6 шт.

Жирность молока у домашних коров (*Bos taurus* L.) контролируется несколькими генами, отвечающими за количество синтезируемых лактоцитами молочной железы липидов, их биохимический состав, а также генами-модификаторами, которые могут усиливать, ослаблять или иным образом изменять экзокринную активность glanduloцитов.

Задание 1.1 (4 балла).

В предварительных экспериментах было проведено скрещивание двух пород коров – красно-пестрой (P_1) и черно-пестрой (P_2) не различающихся по уровню жирности молока. У обоих он составлял в среднем около 3 %. У полученных в результате такого скрещивания гибридов первого поколения (F_1) после достижения половозрелости был определен уровень жирности молока. Он находился в среднем на уровне 3 %. Гибриды F_1 были скрещены между собой, и у полученного таким образом особей второго поколения (F_2) тоже был определен показатель жирности молока. Он варьировал в пределах от 5 % до 1 %. Шаг варьирования в среднем составлял 1 % (5 %, 4 %, 3 %, 2 % и 1 %). Схему опыта по скрещиванию красно-пестрой и черно-пестрой пород коров см. ниже (схема опыта № 1).

Схема опыта № 1.



Вам необходимо решить следующие задачи:

- ☐ определить, являются ли исходные родительские организмы P_1 и P_2 чистыми линиями (гомозиготами) в отношении изучаемого гена/генов;
- ☐ определить характер наследования признака «жирность молока» у домашних коров;
- ☐ определить генотипы родительских форм P_1 и P_2 , гибридов первого поколения F_1 и второго поколения F_2 .

Внимание! Различий по жизнеспособности зигот или гамет у анализируемых форм животных отмечено не было.

Задача 1.1.1. (1 балл). Проанализируйте схему опыта №1, определите, являются ли исходные родительские организмы P_1 и P_2 чистыми линиями (гомозиготами).

Впишите условное обозначение, соответствующее верному утверждению:

- A. Растение P_1 гомозиготно, а P_2 гетерозиготно.
- B. Оба родительских растения гомозиготны.
- C. Растение P_2 гомозиготно, а P_1 гетерозиготно.
- D. Оба родительских растения гетерозиготны.
- E. Определить, являются ли родители чистыми линиями, по результатам эксперимента не возможно

1.1.1.: _____

Задача 1.1.2. (1 балл) Определите характер наследования признака «жирность молока» у домашних коров. Для этого необходимо проанализировать схему опыта № 1 (фенотипы потомства F_1 и F_2 , полученных в результате скрещивания животных P_1 и P_2).

Впишите букву, соответствующую правильному ответу.

- A. Признак контролируется одним геном, аллели гена взаимодействуют по принципу полного доминирования.
- B. Признак контролируется одним геном, аллели гена взаимодействуют по принципу неполного доминирования.
- C. Признак контролируется одним геном, аллели гена взаимодействуют по принципу кодоминирования.
- D. Доминантный эпистаз.
- E. Рecessивный эпистаз.
- F. Комплементарность.
- G. Некумулятивная полимерия
- H. Кумулятивная полимерия.
- I. Криптомерия.
- K. Плейотропия.

1.1.2.: _____

Задача 1.1.3. (2 балла). Определите все возможные генотипы родительских форм P_1 и P_2 , гибридов F_1 и F_2 .

Укажите в соответствующих ячейках таблицы генотипы P_1 и P_2 , F_1 и F_2 используя буквы **A, B, C, D** и т.д. для доминантных аллелей, **a, b, c, d** и т.д. – для рецессивных. В тех случаях, когда это необходимо, укажите частоту встречаемости генотипа.

Впишите данные в таблицу.

Животные	Фенотип («жирность молока»)				
	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %
P_1					
P_2					
F_1					
F_2					

Задание 1.2 (6 баллов).

Вам даны пять проб образцов молока, взятых у гибридов **второго поколения F_2** (образцы 1-5). Образцы взяты от представителей пяти разных фенотипических классов, появившихся в этом поколении.

Вам необходимо решить следующую задачу:

- ☐ определить, жирность молока в каждой пробе (принадлежность пробы к фенотипическому классу поколения F_2).

Задание 1.2.1 (5 баллов).

Методика определения жирности молока (ход работы)

- На поверхность файла нанесите маркером цифровое обозначение образца, указанное на соответствующей пробирке.
- Пипеткой нанесите в два ряда **пять** капель молока из пробы рядом с соответствующим цифровым обозначением. **ВНИМАНИЕ!!! КАЖДУЮ ПРОБУ МОЛОКА НАНОСИТЕ ОТДЕЛЬНОЙ ПИПЕТКОЙ! НЕ ПУТАЙТЕ ПИПЕТКИ!!!**

	номер пробы	номер пробы	номер пробы	номер пробы	номер пробы
Ряд 1	☐	☐	☐	☐	☐
Ряд 2	☐	☐	☐	☐	☐

3. К каждой пробе молока добавьте по **пять** капель дистиллированной воды отдельной пипеткой. **ВНИМАНИЕ!!! СЛЕДИТЕ ЗА ТЕМ, ЧТОБЫ ПИПЕТКА, КОТОРОЙ ДОБАВЛЯЕТЕ ВОДУ НЕ КАСАЛАСЬ ПРОБЫ!**
4. К пробам молока во втором ряду добавьте по две капли «Реактива для определения жирности молока №1». Перемешайте реакционную смесь деревянной палочкой. Ожидайте 10 мин.
5. К пробам молока во втором ряду, к которым был добавлен «Реактив для определения жирности молока №1», добавляйте по каплям «Реактив для определения жирности молока №2». Добавлять Реактив № 2 следует не спеша, постоянно перемешивая реакционную смесь деревянной палочкой. **Следует немедленно прекратить добавление реактива после исчезновения синего окрашивания и достижения реакционной смесью первоначальной молочно-белесой окраски. Первоначальную окраску пробы сверять с образцами, представленными у Вас в первом ряду.**
ВНИМАНИЕ!!! ЗАПРЕЩАЕТСЯ ИСПОЛЬЗОВАТЬ ОДНИ И ТЕ ЖЕ ПАЛОЧКИ ДЛЯ ПЕРЕМЕШИВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ОБРАЗЦОВ!!!
6. Запишите количество капель «Реактива для определения жирности молока №2», которое потребовалось для обесцвечивания соответствующей пробы в таблицу.

Номер пробы	1	2	3	4	5
Количество капель реактива №2					

Задание 1.2.2 (1 балл).

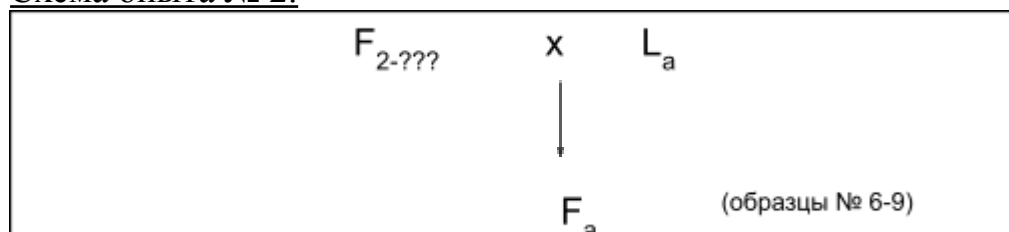
Количество капель «Реактива для определения жирности молока №2», которое потребовалось для обесцвечивания соответствующей пробы обратно пропорционально количеству жира, содержащегося в ней. Чем большее количество реактива расходовалось в процессе титрования, тем ниже было содержание жира в соответствующей пробе. Опираясь на результаты, полученные при выполнении задания 1.2.1, заполните следующую таблицу.

Номер пробы	1	2	3	4	5
Жирность молока в пробе, %					

Задание 1.3 (10 баллов).

Из поколения F_2 (см. схему опыта № 1, задание 1.1) случайным образом была отобрана одна особь. С ней было проведено анализирующее скрещивание. Для этого она была скрещена с представителем линии-анализатора. От этого скрещивания получено поколение F_a . Схему опыта см. ниже (схема опыта № 2).

Схема опыта № 2.



Вам необходимо решить следующие задачи:

- ☐ определить генотипы и фенотипы поколения F_a ;
- ☐ определить генотип и фенотип особи, отобранной из второго поколения F_2 , а также генотип и фенотип особи линии-анализатора L_a .

Внимание! Различий по жизнеспособности зигот или гамет у анализируемых форм животных отмечено не было.

Задание 1.3.1 (5 баллов).

Вам даны четыре пробы образцов молока, взятых у потомков в **анализирующем скрещивании** F_a (образцы 6-9). Образцы взяты от представителей разных генетических классов, появившихся в этом поколении. Проба молока была также взята у гибрида $F_{2-???}$ (образец 10). Вам необходимо определить, жирность молока в каждой пробе согласно методике описанной в задании 1.2.1.

Запишите количество капель «Реактива для определения жирности молока №2», которое потребовалось для обесцвечивания соответствующей пробы в таблицу.

Номер пробы	6	7	8	9	10
Количество капель реактива №2					

Задание 1.3.2 (2,5 балл).

Опираясь на результаты, полученные при выполнении задания 1.3.1, заполните следующую таблицу.

Номер пробы	6	7	8	9	10
Жирность молока в пробе, %					

Задание 1.3.3. (2,5 балла). Определите все возможные генотипы родительских форм $F_{2-???}$ и L_a , гибридов F_a .

Укажите в соответствующих ячейках таблицы генотипы $F_{2-???}$ и L_a , гибридов F_a используя буквы **A, B, C, D** и т.д. для доминантных аллелей, **a, b, c, d** и т.д. – для рецессивных. Впишите данные в таблицу.

Животны е	Фенотип («жирность молока»)				
	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %
$F_{2-???}$					
L_a					
F_a					

Задание 2: (10 баллов)

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛОКУСА, ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА ПРОЯВЛЕНИЕ ПРИЗНАКА «ЖИРНОСТЬ МОЛОКА» У *Bos taurus* L.

Сравнение генетического материала коров, характеризующихся высокой жирностью молока (5%) и коров, с низкими показателями жирности (1%) позволило выявить некоторые особенности в нуклеотидной последовательности фрагмента геномной ДНК, протяженностью 26 т.п.н.

Задание 2.1 (7 баллов).

Фрагменты геномной ДНК размером 26 т.п.н., ассоциированные с признаком «жирность молока» были изолированы из биологического материала коров, характеризующихся высокой жирностью молока (5%) и коров, с низкими показателями жирности (1%) и подвергли частичному расщеплению рестриктазой *Bam*HI. Полученные при неполном расщеплении пять фрагментов обозначили в порядке убывания размеров буквами от А до Е. Индекс внизу буквы соответствует размеру фрагмента. Затем каждый из этих фрагментов был дополнительно обработан рестриктазой *Bam*HI до полного расщепления и подвергнут электрофоретическому анализу. Полученные результаты представлены в таблице.

ДНК коров с жирностью молока 5%		ДНК коров с жирностью молока 1%	
Фрагменты, полученные при неполном расщеплении	Размеры фрагментов, выявляемые на электрофореграмме, после полной рестрикции, т.п.н.	Фрагменты, полученные при неполном расщеплении	Размеры фрагментов, выявляемые на электрофореграмме, после полной рестрикции, т.п.н.
A ₁₆	8,0 6,0 2,0	A ₁₅	7,0 6,0 2,0
B ₁₅	7,0 6,0 2,0	B ₁₄	6,0 5,0 3,0
C ₁₁	8,0 3,0	C ₁₁	6,0 3,0 2,0
D ₉	7,0 2,0	D ₁₁	5,0 3,0
E ₈	6,0 2,0	E ₉	7,0 2,0

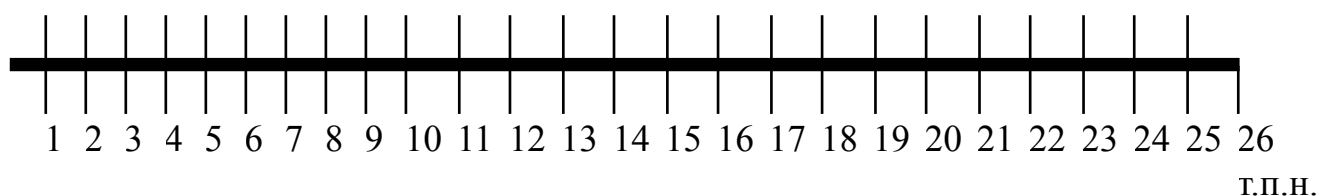
Вам необходимо решить следующие задачи:

- ☐ построить рестрикционную карту анализируемого локуса для ДНК коров с жирностью молока 5% и для ДНК коров с жирностью молока 1%.
- ☐ указать выявленные отличия между двумя анализируемыми формами.

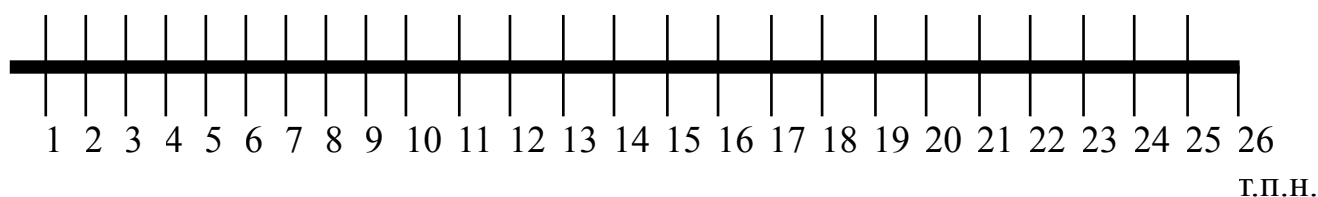
- перечислить в порядке убывания размера все фрагменты ДНК, возникающие в результате полной рестрикции анализируемого локуса ДНК у коров с жирностью молока 5% и у коров с жирностью молока 1%.

Задание 2.1.1. (3 балла). Постройте рестрикционные карты анализируемого локуса ДНК для коров с жирностью молока 5% и для коров с жирностью молока 1%. На предложенных ниже заготовках отметьте координаты сайтов распознавания рестриктазы BamHI.

5%



1%



Задание 2.1.2. (2 балла). Перечислите в порядке убывания размера все фрагменты ДНК, возникающие в результате полной рестрикции анализируемого локуса ДНК у коров с жирностью молока 5% и у коров с жирностью молока 1%. Данные внесите в таблицу. (Если в результате рестрикции образуется несколько фрагментов одинаковой длины, то в таблицу их вносят столько раз, сколько типов фрагментов было получено.)

Форма	Размеры фрагментов ДНК, получаемых при полной рестрикции BamHI								
5%									
1%									

Задание 2.1.3. (2 балла). Укажите выявленные отличия в строении фрагмента между двумя анализируемыми формами. Данные внесите в таблицу.

Форма	Количество сайтов BamHI	Истинное количество фрагментов рестрикции	Количество фрагментов рестрикции, видимых при электрофорезе	Истинный размер локуса, т.п.н.	Сумма видимых фрагментов рестрикции, выявляемых на электрофореграммах
5%					
1%					

Задание 2.2 (3 балла).

Используя результаты рестрикционного анализа и электрофоретического разделения продуктов рестрикции с последующим количественным обчетом концентраций фрагментов ДНК в геле, можно определить генотип анализируемой особи. Для этого достаточно определить массовое или эквимольное соотношение продуктов реакции для различных условий (генотипов).

В нашем случае мы будем использовать такую переменную величину, как соотношение в образце ДНК числа фрагментов рестрикции размером 3 т.п.н. к числу фрагментов рестрикции в 6 т.п.н., образуемых в результате полного ферментативного расщепления анализируемого фрагмента рестриктазой BamHI.

Задание 2.2.1 (2 балла).

Руководствуясь данными, полученными ранее при выполнении задания 1 и 2, заполните таблицу.

Форма	Количество фрагментов, размером		Соотношение a/b	Генотип
	a	b		
	3 т.п.н.	6 т.п.н.		
5%				
1%				

Задание 2.2.2 (1 балл).

Руководствуясь данными, полученными ранее при выполнении задания 1 и 2, определите соотношение a/b для образцов №1 - №5.

№ образца	Соотношение a/b	Один из возможных генотипов	Фенотип
образец № 1			

образец № 2			
образец № 3			
образец № 4			
образец № 5			