Третий этап республиканской олимпиады по «Биологии» (2017-2018)

10 класс

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

АНАТОМИЯ РАСТЕНИЙ (15 баллов)

<u>Задание 1</u> (*9 балов)*. Изучение цветка Альстремерии.

<u>Материалы, оборудование</u>: цветок, препаровальная игла, лупа, лезвие.

Рассмотрите цветок. При необходимости используйте лупу, препарировальную иглу и лезвие. Зарисуйте диаграмму цветка, сохраняя особенности его строения, учитывая, что количество тычинок=6. (2,5 балла)

Место для диаграммы

Запишите формулу цветка (2 балла) _____

Заполните таблицу, признаки в которой будут верно характеризовать строение цветка Альстремерии (выбрать да или нет). По 0,25 баллов за позицию. (3,5 балла)

Утверждение	**Да/нет**
Завязь нижняя	
Лепестки расположены в один круг	
Гинецей ценокарпный	
Гинецей синкарпный	
Тычинки в двух кругах	
Цветки актиноморфные	
Опыление преимущественно ветром	
Семязачатков три	
Гнездо в завязи одно	
Цветок спиральный	
Цветок гемициклический	
Стаминодиев шесть	
Андроцей двубратственный	

Цветок пятикруговой	

Исходя из строения цветка, предположите, к каким систематическим категориям относится это растение (1 балл, по 0,5 за позицию):
Отдел _____ Класс_____









Задание 2. Анатомическое изучение стебля неизвестного растения (6 баллов).

Материалы, оборудование: стебель неизвестного растения, лезвие, микроскоп, стаканчик с водой, пипетка Пастера, стекла.
Перед Вами в чашке Петри находится стебель неизвестного растения. Используя лезвие, сделайте поперечный срез через стебель. Внимательно рассмотрите его под микроскопом и зарисуйте срез, сохраняя видимые структуры, сделайте подписи к рисунку и ответьте на вопросы:

Место для рисунка (3 балла)

Рассмотрите, присутствует ли в стебле этого растения вторичная латеральная меристема? (0,5 балла)
А) да, это камбий;
Б) да, это кольцо перицикла;
В) отсутствует

Какие типы проводящих пучков встречаются у этого растения? (1 балл)

_____

2.3. Может ли этот стебель принадлежать растению, с которого были сорваны цветки из задания 1? (0,5 балла) _____

Обоснуйте свое мнение (1 балл)

_____
_____
_____

Выполнив все задания, наведите, пожалуйста, порядок на своем рабочем месте. Если это не будет сделано, дежурный преподаватель вправе оштрафовать вас на 2 балла.

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ *(*15 баллов*)*

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются: Объекты №1-5, этиловый спирт, вода, вазелиновое масло, 1 пробирка пластиковая, 4 пробирки стеклянные, воронка, стеклянная палочка, 2 пипетки Пастера, ножницы, кварцевый песок, фильтровальная бумага, салфетки, медицинский резиновый напальчник, черный лист бумаги, шприц, чашка Петри. Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!
Задания нужно выполнять начиная с первого. В течение первого задания будет несколько перерывов, во время которых можно выполнить другие задания.
Все оборудование после выполнения заданий должно быть оставлено в исходном состоянии. Рабочее место должно быть чистым!

Задание 1 (5 баллов: по 1 за ячейку).

Перед Вами находятся Объекты №1 и №2, которые культивировались в разных физических условиях в течение одного времени.

Надземную часть 6-8 проростков, окрашенных в желтый цвет (Объект №1), измельчите как можно тщательнее с помощью ножниц на фильтровальную бумагу. Измельченный растительный материал перенесите в пластиковую пробирку и прилейте туда с помощью пипетки Пастера 5 мл этилового спирта. Добавьте в пробирку щепотку кварцевого песка. Используя стеклянную палочку, тщательно проведите растирание растительного материала в пробирке в течение 2-3 минут. Полученный гомогенат профильтруйте через бумажный фильтр с помощью воронки в чистую стеклянную пробирку.

Сполосните пластиковую пробирку 2 мл этанола и проделайте аналогичные манипуляции с проростками, окрашенными в зеленый цвет (Объект №2), профильтровав новый гомогенат во вторую чистую стеклянную пробирку. Для последующей реакции достаточно по 2-3 мл каждого из экстрактов. Это, примерно, 2-3 см по высоте в стеклянной пробирке. Использованные бумажные фильтры сложите аккуратно на одну из половинок свободной чашки Петри.
Далее налейте в две чистые стеклянные пробирки с помощью пипетки Пастера по 2 мл экстрактов Объекта №1 и №2. Прилейте к экстрактам по 1 мл дистиллированной воды и 2 мл вазелинового масла. Обратите внимание на разделение слоев и их окраску. Наденьте медицинский резиновый напальчник на большой палец руки, закройте им плотно пробирки и несколько раз сильно встряхните их, сначала пробирку с экстрактом Объекта №1, а потом пробирку с экстрактом Объекта №2. Оставьте пробирки на 5-10 минут в штативе, пока не произойдет полное разделение слоев на две фазы. Внимательно рассмотрите две пробирки.
Ответьте на следующие вопросы, заполнив таблицу.

А. Назовите физическое условие культивирования растений, при котором можно получить проростки, окрашенные в желтоватый или белый цвет, представленные в виде Объекта №1.
Б. Дайте название научного термина, который характеризует проростки (растения), культивируемые при условиях, определенных Вами выше, отличающиеся отсутствием хлорофилла, ненормальной формой органов и имеющие внешний вид как у Объекта №1.
В. Проростки, выращиваемые при определенных Вами выше условиях, как Вы заметили, отличаются от зеленых растений более вытянутыми размерами. Это обусловлено присутствием большого количества неких фитогормонов, которые индуцируют рост. С помощью какого механизма (или типа) роста осуществляется удлинение таких растений?
Г. Какие пигменты, из перечисленных ниже в таблице, после экстракции Объекта №1 и Объекта №2 остались в водно-спиртовых фазах?

<table>
<tr><td>А</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>Б</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>В</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td rowspan="3">Г</td><td colspan="2">Хлорофилл а, хлорофилл б, бактериохлорофилл а, α-каротин, фикоэритрин, фикоцианин, β-каротин, виолоксантин, лютеин, феофитин.</td></tr>
<tr><td>Объект №1</td><td>Объект №2</td></tr>
<tr><td></td><td></td></tr>
</table>

Задание 2 (4 балла: по 1 за утверждение).

Белый цвет в природе распространен довольно широко. Например, в него могут быть окрашены венчики цветов, стебли, листья и т.д. При этом данный цвет может быть обусловлен белым красящим пигментом, а может быть и – нет.

Положите 3-4 лепестка венчика Объекта №3 на черную бумагу. Это будет контрольным образцом.
Снимите со шприца поршень и отложите его в сторону. Поместите 3-4 лепестка венчика Объекта №3 в шприц и, закрыв пальцем отверстие, на которое одевается игла, налейте в него с помощью пипетки Пастера 3-4 мл дистиллированной воды. Поместите аккуратно поршень в шприц, стараясь не вылить из него воду. Установите шприц в вертикальном положении (отверстием, на которое одевается игла, вверх) и задвиньте поршень, вытеснив весь воздух из него. Далее закройте пальцем левой руки отверстие шприца для иглы и отведите поршень вниз. Удерживайте шприц в данном положении, примерно, 1 минуту. После этого вновь задвиньте поршень в шприц, стараясь не выливать из него воду, и 20-30 секунд удерживайте в таком положении. Повторите данную манипуляцию 3 раза. Все процедуры старайтесь проводить над открытой чашкой Петри во избежание разбрызгивания капель по всему столу.
Потом снимите поршень со шприца, вылейте воду в чашку Петри, извлеките лепестки и положите их на черную бумагу. Сравните цвет лепестков опытных образцов и контрольных. Сделайте выводы о природе окраски лепестков венчика Объекта №3. Ответьте на вопросы ниже, вписав их в таблицу.

А. Цвет лепестков венчика Объекта №3 обусловлен белым красящим пигментом? Ответьте лаконично – **да** или **нет.**
Б. Если не белым красящим пигментом обусловлен белый цвет лепестков венчика Объекта №3, то какая морфологическая особенность может обуславливать этот цвет? Ответьте лаконично. Если Вы уверенны, что это – пигмент, то оставьте это поле пустым.
В. Почему лепестки венчика Объекта №3 изменили окраску? Ответьте лаконично – одним предложением.
Г. Назовите белый красящий пигмент, который окрашивает, например, клетки коры березы в белый цвет.

А	
Б	
В	

Г	

Задание 3 (6 баллов: по 2 за утверждение).

Некоторые гормоны очень важны на последнем этапе созревания сочных плодов. Плод при этом перестает расти, начинается выделение пектиназ в апопласт, плоды размягчаются. В ножках плодов активизируется отделительный слой, меняется окраска плодов с зеленой на желтую, красную и т.д.

Рассмотрите Объекты №4 и №5. Представьте, что эти два плода были сняты с одной и той же пальмы в одно и тоже время. Потом они были куплены одним и тем же человеком. Первый из этих плодов (Объект №4) он положил в холодильник. А второй плод (Объект № 5) покупатель положил в закрытый ящик рядом с батареей к другим фруктам. Среди них, в самой глубине ящика, незаметно для нашего покупателя, затаилось гнилое яблоко. Ответьте на вопросы ниже, вписав их в таблицу.

А. Какой гормон стимулировал более быстрое созревание Объекта №5?
Б. Благодаря каким физико-химическим свойствам гормона Объект №5 созрел быстрее Объекта №4.
В. Какой объект из перечисленных выше стал источником этого гормона?

А	
Б	
В	

КАБИНЕТ № 2 БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ
(*30 баллов*)

Продолжительность выполнения задания – 1 час 30 минут

БИОХИМИЯ (*15 баллов*)

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

Задания можно выполнять в любой последовательности.

Задание 1 (на выполнение отводится 20 минут)

Как известно, многие биологические катализаторы для выполнения своих функций пользуются услугами низкомолекулярных соединений, включая и ионы металлов. Ниже приведён перечень широко распространённых ферментов данной группы. Напротив каждого энзима впишите катион металла, который использует данный белок во время катализа. (0,5 балла за каждое правильное соответствие)

А.

Фермент	Катион
Алкогольдегидрогеназа	
ДНК-полимераза	
Каталаза	
Цитохромоксидаза	
Кобаломин-метионин синтаза	
Уреаза	
Нитратредуктаза	
Аргиназа	

Б. Для каких целей ферменты используют катионы металлов? (1 балл).

_____
_____
_____
_____
_____

В. Объясните, будет ли функционировать фермент без катиона? Как это проверить? (1 балл).

_____
_____
_____
_____
_____

Г. С чем связано использование в основном d-металлов побочных групп периодической системы химических элементов? (1 балл).

_____
_____
_____
_____
_____

Д. Где располагается катион металла в молекуле фермента? Почему здесь? Чем можно объяснить скрытое расположение металла от окружающей среды? (1 балл).

_____
_____

_____
_____
_____

Задание 1 (на выполнение отводится 25 минут)

В детективной лаборатории ассистент Дж.Баксон перепутал пробирки с биологическими жидкостями для срочного анализа. Они содержали слюну, желудочный сок, кишечный сок, плазму крови и слёзы. Исследование их свойств было бы невозможно, если бы ему не помог его коллега Ш.Фолмс. прибегнув к биохимической дедукции и небольшому химическому набору, состоящему из раствора нитрата серебра, пероксида водорода, Люголя, крахмала и лакмуса, детектив смог установить, в какой пробирке находится каждая биологическая жидкость. Теперь и вы, проявив смекалку и применив знания, повторите проделанный Фолмсом опыт и опишите полученные результаты.

Для этого из пробирок, пронумерованных от 1 до 5, перенесите примерно по 1 мл каждого раствора (чтобы полностью покрыть дно лунки), имитирующего вышеупомянутые биологические жидкости, в лунку 24-луночного планшета в 4 повторах. Т.е., из пробирки №1 перенесите раствор в первый вертикальный ряд лунок, из второй пробирки во второй ряд, и так далее. Таким образом, должно получиться четыре ряда по 5 занятых лунок. Затем в каждую лунку первого ряда добавьте по 0,1 мл (2-3 капли) раствора нитрата серебра, во второй ряд по 0,1 мл перекиси водорода, в третий ряд по 0,1 мл раствора лакмуса. В последний ряд в каждую лунку внесите по 0,1 мл раствора Люголя.

Раствор крахмала был внесён в биологические жидкости заранее для полного протекания соответствующей реакции.

На основании полученных результатов сделайте заключение, в какой пробирке находится каждая биологическая жидкость, объясните, почему вы сделали такой вывод. (0,5 балла за каждую правильно установленную жидкость и 0,5 балла за правильное объяснение). В строке "Наблюдаемое явление" кратко опишите увиденные изменения для всех повторов.

А.

№ пробирки	**Биологическая жидкость**	**Объяснение**
1		
Наблюдаемое явление		
pH среды		
2		
Наблюдаемое явление		
pH среды		

3		
Наблюдаемое явление		
pH среды		
4		
Наблюдаемое явление		
pH среды		
5		
Наблюдаемое явление		
pH среды		

Б.

Если бы среди исследованных образцов оказался раствор жёлчи, каким образом можно было бы отличить его от остальных имеющихся растворов? Предложите свой вариант(ы). (1 балл за каждый правильный вариант).

_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____

МИКРОБИОЛОГИЯ (*15 баллов*)

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются простой карандаш и стирательная резинка, сантиметровая лента. Лист миллиметровой бумаги.

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

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

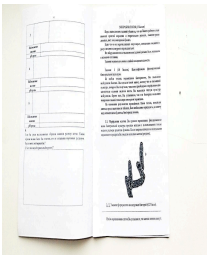
Задания можно выполнять в любой последовательности.

Задание 1 (10 баллов). Идентификация фитопатогенной бактериальной культуры.

Из стебля томата, поражённого бактериозом, вы выделили возбудителя болезни. Вы сделали такой вывод, потому что в смешанной культуре, которую вы получили, численно преобладали морфологически идентичные колонии жёлтого цвета. Вы выделили чистую культуру возбудителя. Кроме того, вы установили, что эти бактерии вызывают мацерацию тканей томата при повторном заражении.

На основании результатов проведённых вами тестов, используя данные, представленные в таблице, вам необходимо определить, к какому виду относится возбудитель бактериоза томата.

1.1. Морфология клеток. Вы провели окрашивание фиксированного мазка бактериальной культуры простым методом с использованием только водного раствора красителя фуксина. После микроскопического исследования окрашенного препарата вы увидели скопления клеток (рисунок).



1.1.1. Укажите форму клеток исследуемых бактерий (0,25 балла)

_____

Путём окрашивания клеток вы установили, что клетки лишены капсул.

В результате окрашивания по методу Грама под микроскопом вы увидели только розовые клетки.

1.1.2. Укажите грампринадлежность исследуемых бактерий (0,25 балла).

_____

Затем вы провели тест Грегерсена с 3%-ным раствором КОН (КОН-тест). Для этого на предметном стекле в капле 3%-ного раствора гидроксида кали вы с помощью бактериологической петли ресуспендировали клетки исследуемого возбудителя в течение 1 минуты, а затем начали поднимать петлю вверх и увидели, что за ней тянется прозрачная тонкая слизистая нить, т.е. тест Грегерсена оказался положительным.

1.1.3. Объясните, что произошло с исследуемыми бактериями в ходе проведения теста Грегерсена (1 балл). _____

_____

Для определения подвижности бактерий вы приготовили неокрашенный препарат "раздавленная капля" и исследовали его с помощью фазово-контрастного микроскопа. Вы поместили каплю культуры бактерий на предметное стекло, каплю накрыли покровным стеклом, избыток жидкости из-под покровного стекла удалили фильтровальной бумагой, а на покровное стекло капнули иммерсионное масло. В результате вы обнаружили силуэты клеток, активно передвигающихся в поле зрения микроскопа.

1.2. Выявление окислительно-фосстановительных ферментов исследуемых бактерий.

Вы внесли небольшое количество исследуемых бактерий в каплю 3%-ного раствора перекиси водорода (H_2O_2) на предметном стекле, ресуспендировали их и наблюдали активное выделение пузырьков газа.

1.2.1. Назовите вид установленной вами ферментативной активности (0,25 балла). _____

Далее вы установили, что исследуемая культура фитопатогена не обладает оксидазной активностью.

1.3. O/F тест, или окислительно-бродильная проба.

Для определения типа расщепления глюкозы (окислительного или ферментативного) вы посеяли исследуемые бактерии в полужидкую агаризированную среду Лейфсона, содержащую неорганические соли, источник азота, глюкозу и индикатор.

При нейтральных значениях pH данная среда окрашена в зелёный цвет; при подкислении среды она становится жёлтой.

В две опытные пробирки со средой Лейфсона вы с помощью бактериологической петли уколом засеяли исследуемую культуру бактерий. В одной из пробирок вы создали анаэробные условия, наслоив на столбик среды сразу после посева 1 мл стерильного вазелинового масла. В третью контрольную пробирку со средой Лейфсона вы ничего не засевали (контроль). После инкубирования в течение 48-72 часов при оптимальной для бактерий температуре равной 28ºС, сравнив цвет среды в двух опытных пробирках с контрольной, вы проанализировали полученные результаты.

1.3.1. Вы установили, что исследуемые бактерии обладают окислительным типом метаболизма глюкозы. Какого цвета была среда в каждой из опытных пробирок? (0,5 балла). _____

_____

1.4. Выявление продукции гидролитических ферментов исследуемых бактерий.

Вы с помощью бактериологической петли засеяли исследуемую бактериальную культуру фитопатогена медальоном (диаметр 3-5 мм) на поверхность полипектатного геля в чашке Петри. Затем вы инкубировали чашку в термостате при температуре 28ºС в течение суток. В итоге вы обнаружили, что на поверхности полипектатного геля вокруг медальона образуется лунка в результате погружения медальона в толщу геля.

Для получения полипектатного геля на поверхность затвердевшей полноценной агаризованной питательной среды, содержащей ионы Ca^{2+}, вы наслаивали 1,5%-ный раствор полипектата натрия. Ионы кальция в агаризованной питательной среде необходимы для образования полипектатного геля. Полноценную агаризованную питательную среду, содержащую ионы Ca^{2+}, готовят путём добавления 3 мл одномолярного раствора $CaCl_2$ (1 моль/л) к 100 мл питательной среды.

1.4.1. Вам нужно приготовить 3 л затвердевшей агаризированной полноценной среды, содержащей ионы Ca^{2+}. Для этого в свою очередь необходимо приготовить определённый объём одномолярного (1 моль/л) раствора хлорида кальция. Рассчитайте, какую массу порошка хлорида кальция необходимо взвесить для

приготовления этого одномолярного (1 моль/л) раствора. Молярная масса кальция 40 г/моль, хлора 35,5 г/моль. Ответ выразите в граммах без округления числа.

_____(1 балл).

Культуру возбудителя бактериоза вы с помощью бактериологической петли засеяли медальоном (диаметр 5-8 мм) на поверхность минимальной агаризованной среды, содержащей 0,1% растворимой целлюлозы (карбоксиметилцеллюлозы). И инкубировали в течение 48 часов при оптимальной температуре. После этого вы залили поверхность среды в чашке Петри 0,1%-ным водным раствором конго красного, который необходим для окрашивания волокон целлюлозы, и выдерживали 20 минут. Затем краситель слили, чашку промыли 8%-ным водным раствором хлорида натрия, чтобы удалить краситель, не связавшийся с целлюлозой. Таким образом вы установили наличие светлых неокрашенных зон вокруг медальонов, при условии, что вся остальная поверхность питательной среды в чашке Петри окрасилась в красный цвет.

1.4.2. Для чего патогенным микроорганизмам нужны пектолитическая и целлюлолитическая активности? (1 балл). _____

_____

1.4.3. Назовите мономер целлюлозы (0,5 балла). _____

Сероводород является конечным продуктом расщепления аминокислот цистеина и метионина. Чтобы выявить образование сероводорода в результате метаболической активности исследуемых бактерий вы с помощью бактериологической петли засеяли культуру бактерий в пробирку с мясо-пептонным бульоном. Затем между стенкой засеянной пробирки и пробкой вы закрепили полоску фильтровальной бумаги, пропитанной раствором ацетата свинца. Через 72 часа инкубирования пробирки при температуре 28ºС, вы обнаружили, что бумага почернела в результате взаимодействия сероводорода и ацетата свинца.

1.4.4. Запишите химическое уравнение взаимодействия сероводорода и ацетата свинца со всеми коэффициентами. (1 балл).

_____

1.4.5. Из-за какого вещества, образующегося в результате взаимодействия сероводорода и ацетата свинца, чернеет полоска фильтровальной бумаги? (1 балл)

_____

1.4.6. Чем аминокислоты метионин и цистеин отличаются от остальных аминокислот? (0,5 балла). _____

Вы засеяли исследуемую культуру с помощью бактериологической петли уколом в столбик питательного бульона, содержащего 15% пищевого желатина. В качестве отрицательного контроля вы использовали пробирку со столбиком среды, в которую бактерии не засевали. Пробирки выдерживали при комнатной температуре (20-22ºС) в течение нескольких дней, после чего вы потрясли пробирки и обнаружили, что в пробирке, с засеянной исследуемой культурой большая часть столбика питательной среды жидкая, в то время как в контрольной пробирке среда осталась застывшей.

1.4.7. Назовите исследованную ферментативную активность (0,25 балла).

_____

1.4.8. Продуктом денатурации какого животного белка является желатин? (1 балл). _____

Для выявления ещё одной активности бактериальную культуру фитопатогена вы с помощью бактериологической петли засеяли медальоном (диаметр 3-5 мм) 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 зафиксировали зону просветленияворуг медальона, при этом вся остальная поверхность питательной среды в чашке Петри окрасилась в сине-фиолетовый цвет.

1.4.9. Назовите исследованную ферментативную активность бактерий (0,25 балла). _____

1.5. Идентификация. На основании результатов тестов и анализа данных, предложенных в таблице, определите, к какому виду относится возбудитель бактериоза томата (1,25 балла).

Вид бактерий	Форма клеток	Грам принадлежность	Наличие капсул	Подвижность	Каталазная активность	Оксидазная активность	O/F тест	Пектолитическая активность	Целлюлитическая активность	Образование H_2S	Протеолитическая активность	Амилолитическая активность
Escherichia coli	**П**	**Г–**	+	+	+	–	**F**	-	-	+	+	–
Xanthomonas campestris	**П**	**Г–**	-	+	+	–	**O**	+	+	+	+	+
Pantoea agglomerans	**П**	**Г–**	-	+	+	–	**F**	+	+	+	–	–
Clavibacter michiganensis	**П**	**Г+**	-	–	+	–	**O**	+	+	+	+	–
Staphylococcus aureus	**К**	**Г+**	-	-	+	-	**F**	-	-	-	-	-
Pseudomonas syringae	**П**	**Г–**	-	+	+	+	**O**	+	+	-	+	–
Micrococcus luteus	**К**	**Г+**	-	-	+	-	**F**	-	-	-	+	-
Agrobacterium tumefaciens	**П**	**Г–**	-	+	+	+	**O**	+	+	+	–	–
Bacillus subtilis	**П**	**Г+**	+	+	+	–	**F**	-	-	-	+	+
Erwinia carotovora	**П**	**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; "O" или "F" – окислительный или ферментативный тип расщепления глюкозы.

Задание 2 (5 баллов). Построение кривой роста культуры бактерий *Escherichia coli.*

2.1. В таблице приведены данные, которые вы получили в результате определения кинетики роста культуры бактерий *Escherichia coli.* Для получения этих данных вы развели культуру бактерий в 20 раз в питательном бульоне и начали культивирование *Escherichia coli* при оптимальной температуре (37ºС) с перемешиванием и аэрацией. Через определённые промежутки времени вы измеряли оптическую плотность жидкой бактериальной культуры с использованием спектрофотометра в течение 14 часов. Оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 600 нм. В таблице она обозначена как $ОП_{600}$ и выражена в единицах, время выражено в часах.

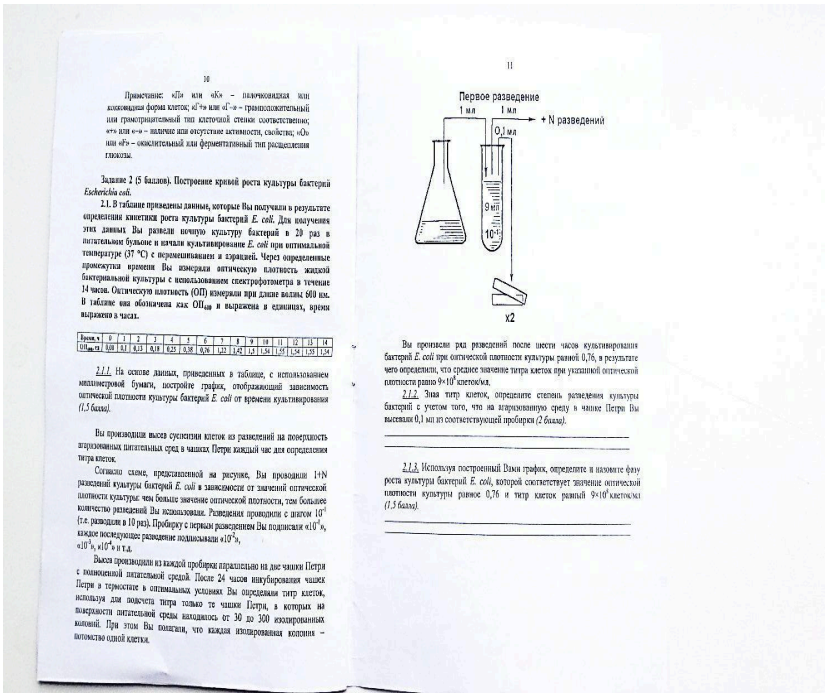
Время, ч	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**
$ОП_{600,}$ ед	0,08	0,1	0,13	0,18	0,25	0,38	0,76	1,22	1,42	1,5	1,54	1,55	1,54	1,55	1,54

2.1.1. На основе данных, приведённых в таблице, с использованием миллиметровой бумаги, постройте график, отображающий зависимость оптической плотности культуры бактерий ***Escherichia coli*** от времени культивирования (1,5 балла).

Вы производили высев суспензии клеток из разведений на поверхность агаризованных питательных сред в чашках Петри каждый час для определения титра клеток.

Согласно схеме, представленной на рисунке, вы проводили 1+N разведений культуры бактерий ***Escherichia coli*** в зависимости от значений оптической плотности культуры: чем больше значение оптической плотности, тем большее количество разведений вы использовали. Разведения проводили с шагом 10^{-1} (т.е. разводили в 10 раз). Пробирку с первым разведением вы подписали "10^{-1}" , каждое последующее разведение подписывали "10^{-2}", "10^{-3}", "10^{-4}" и т.д.

Высев производили из каждой пробирки параллельно на две чашки Петри с полноценной питательной средой. После 24 часов инкубирования чашек Петри в термостате в оптимальных условиях вы определяли титр клеток, используя для подсчёта титра только те чашки Петри, в которых на поверхности питательной среды находилось от 30 до 300 изолированных колоний. При этом вы полагали, что каждая изолированная колония – потомство одной клетки.



Вы произвели ряд разведений после шести часов культивирования бактерий ***Escherichia coli*** при оптической плотности культуры равной 0,76, в результате чего определили, что среднее значение титра клеток при указанной оптической плотности равно $9^{x}10^{8}$ клеток/мл.

2.1.2. Зная титр клеток, определите степень разведения культуры бактерий с учётом того, что на агаризованную среду в чашке Петри вы высевали 0,1 мл из соответствующей пробирки (2 балла). _____

2.1.3. Используя построенный вами график, определите и назовите фазу роста культуры бактерий ***Escherichia coli,*** который соответствует значение оптической плотности культуры равное 0,76 и титр клеток равный $9^{x}10^{8}$ клеток/мл (1,5 балла). _____

КАБИНЕТ № 3 ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ (*30 баллов*)

Продолжительность выполнения задания – 1 час 30 минут

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе присутствуют все позиции из перечня «Материалы и оборудование». Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Материалы и оборудование

1.	Клеточный гомогенат растения Р1.	образец № 1
2.	Клеточный гомогенат растения Р2.	образец № 2
3.	Клеточный гомогенат растения Р3.	образец № 3
4.	Клеточный гомогенат растения F1-2.	образец № 4
5.	Клеточный гомогенат растения F1-3.	образец № 5

6.	Клеточный гомогенат растения F2-3.	образец № 6
7.	Клеточный гомогенат растения P4.	образец № 7
8.	Клеточный гомогенат растения P5.	образец № 8
9.	Клеточный гомогенат растения P6.	образец № 9
10	Клеточный гомогенат растения F4-6.	образец № 10
11	Клеточный гомогенат растения F4-6.	образец № 11
12	Клеточный гомогенат растения F5-6.	образец № 12
13	Клеточный гомогенат растения F5-6.	образец № 13
14	Реактив для определения содержания крахмала в образце	реактив
15	Прозрачный файл со вставленным белым листом бумаги	1 шт.
16	Пипетки Пастера	14 шт.
17	Деревянные зубочистки	13 шт.
18	Салфетки бумажные	3-4 шт.

Задание 1 (17,5 баллов)

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКА «УРОВЕНЬ ЗАПАСНОГО ПИТАТЕЛЬНОГО ВЕЩЕСТВА КРАХМАЛА» У ЗЕЛЕНОЙ ВОДОРОСЛИ КЛАДОФОРЫ СКУЧЕННОЙ *Cladophora glomerata (L.) Kutz.*

Некоторые группы водорослей имеют гаметическую редукцию генетической информации, которая характерна для царства животных. Мейоз происходит у них при образовании гамет, остальные клетки всегда диплоидные. Такая смена ядерных фаз присуща диатомовым и циклоспоровым водорослям, а также одному из видов кладофоры – кладофоре скученной (*Cladophora glomerata (L.) Kutz.*). Это представитель отдела *Chlorophyta* (Зеленые водоросли), запасным питательным веществом у которого является истинный крахмал. Вам предстоит определить особенности наследования признака «уровень запасного питательного вещества крахмала» у зеленой водоросли кладофоры скученной.

В предварительных экспериментах было установлено, что количество запасаемого клетками крахмала зеленой водоросли кладофора скученная зависит от **одного гена**. Данный **ген имеет несколько аллельных состояний**, которые были названы **аллель a1**, **аллель a2** и **аллель a3**.

Также было установлено, что эти аллели отвечают за следующие состояния признака:

аллель a1 – «накопление большого количества крахмала в клетках»;
аллель a2 – «отсутствие крахмала в клетках»;
аллель a3 – «накопление небольшого количества крахмала в клетках».

Вам необходимо решить следующие задачи:

- ❑ определить характер аллельного взаимодействия генов a1, a2 и a3;
- ❑ определить генотипы родительских форм и гибридов первого.

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

ЗАДАНИЕ 1.1 (4,5 БАЛЛА). ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПА РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ P_1, P_2, P_3.

Вам даны три образца клеточных гомогенатов, приготовленных из талломов трех разных растений кладофоры. Они находятся в пробирках с обозначениями «образец 1», «образец 2» и «образец 3».

На предварительном этапе Вам необходимо решить следующую задачу:

- ❑ определить содержание крахмала в представленных образцах и определить генотипы растений, из которых приготовлены эти образцы.

Задание 1.1.1 (3,0 балла). Определение содержания крахмала в образцах 1-3.

Методика определения крахмала (ход работы)

1. На поверхность файла нанесите маркером цифровое обозначение образца, указанное на соответствующей пробирке.
2. Соответствующими пипетками нанесите по **две** капли клеточного гомогената из пробы рядом с соответствующим цифровым обозначением**. ВНИМАНИЕ!!! КАЖДУЮ ПРОБУ ГОМОГЕНАТА НАНОСИТЕ ОТДЕЛЬНОЙ ПИПЕТКОЙ! НЕ ПУТАЙТЕ ПИПЕТКИ!!!**

	номер пробы	номер пробы	номер пробы
Ряд 1	□	□	□

3. К каждой пробе клеточного гомогената добавьте по **две** капли «Реактива для определения содержания крахмала» отдельной пипеткой. **ВНИМАНИЕ!!! СЛЕДИТЕ ЗА ТЕМ, ЧТОБЫ ПИПЕТКА, КОТОРОЙ ДОБАВЛЯЕТЕ РЕАКТИВ НЕ КАСАЛАСЬ ПРОБЫ!** Реактив следует добавлять не спеша, перемешивая реакционную смесь деревянной палочкой.

   ВНИМАНИЕ!!! ЗАПРЕЩАЕТСЯ ИСПОЛЬЗОВАТЬ ОДНИ И ТЕ ЖЕ ПАЛОЧКИ ДЛЯ ПЕРЕМЕШИВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ОБРАЗЦОВ!!!

4. Запишите цвет полученного раствора для каждого из образцов в таблицу:

НОМЕР ПРОБЫ	образец 1	образец 2	образец 3
ОКРАСКА			

Задание 1.1.2 (1,5 балла). Определение генотипов кладофоры (образцы 1-3).

Проанализируйте полученные Вами при выполнении задания 1.1.1 результаты и определите генотипы растений кладофоры, обозначенные как «образец 1», «образец 2» и «образец 3». Известно, что они являются **гомозиготами** по изучаемому гену.

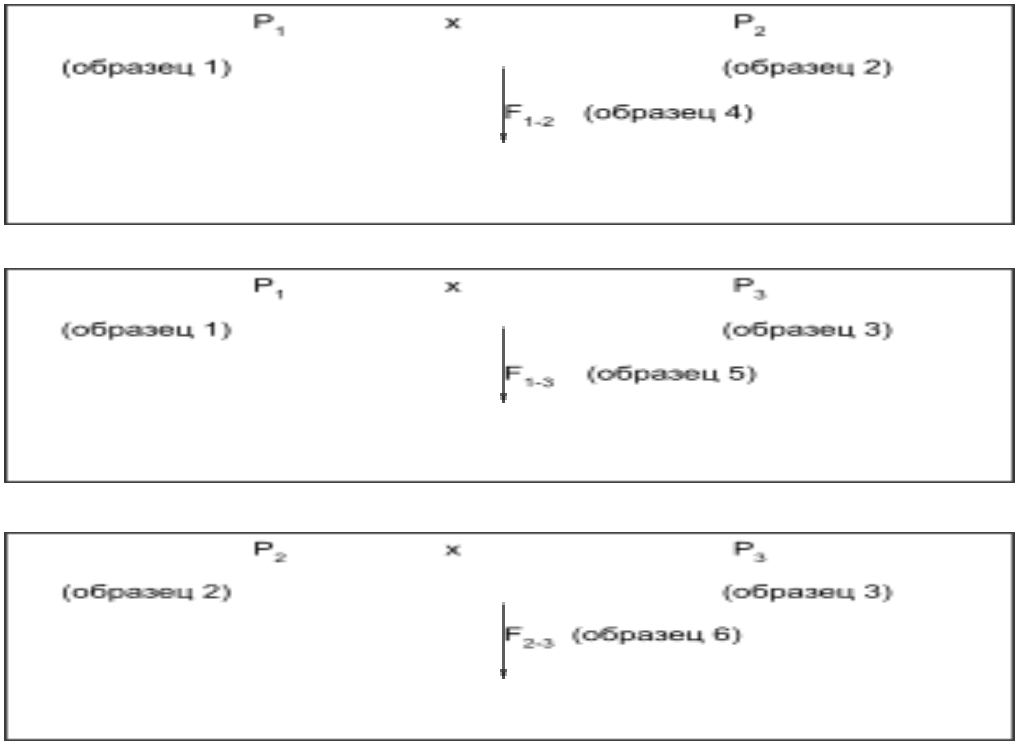
Запишите соответствующие генотипы в таблицу **ИСПОЛЬЗУЯ ПРИНЯТЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ** (A1, A2 и A3).

РАСТЕНИЕ	**образец 1**	**образец 2**	**образец 3**
ГЕНОТИП			

ЗАДАНИЕ 1,2 (5 БАЛЛОВ). ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА АЛЛЕЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ a1, a2 И a3.

Проведено скрещивание растений кладофоры P_1 (образец 1), P_2 (образец 2) и P_3 (образец 3) по следующей схеме:

Схема опыта № 1.



Получено поколение клеток F_1 от каждого из этих скрещиваний (обозначены как F_{1-2}, F_{1-3} и F_{2-3}. соответственно). Вам даны три образца разбавленных клеточных гомогенатов, приготовленных из талломов растений кладофоры, полученных от трех этих скрещиваний. Они находятся в пробирках с обозначениями «образец 4», «образец 5» и «образец 6».

Вам необходимо решить следующие задачи:

- ❑ определив содержание крахмала в представленных образцах, определить генотипы растений F_{1-2}, F_{1-3} и F_{2-3} по гену, отвечающему за количество запасаемого клетками крахмала;
- ❑ определить тип аллельного взаимодействия для a1, a2 и a3.

Задание 1.2.1 (1,5 балла). Определение содержания крахмала в образцах 4-6.

1. Согласно методике, описанной в задании 1.1.1, определите содержание крахмала в образцах 4-6.

2. Запишите цвет полученного раствора для каждого из образцов в таблицу:

НОМЕР ПРОБЫ	**образец 4**	**образец 5**	**образец 6**
ОКРАСКА			

Задание 1.2.2 (1,5 балла). Определение генотипов кладофоры (образцы 4-6).

Проанализируйте полученные Вами при выполнении задания 1.2.1 результаты и определите генотипы растений кладофоры, обозначенные как «образец 4», «образец 5» и «образец 6». Запишите соответствующие генотипы в таблицу, **ИСПОЛЬЗУЯ ПРИНЯТЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ** (a1, a2 и a3).

РАСТЕНИЕ	**образец 4**	**образец 5**	**образец 6**
ГЕНОТИП			

Задание 1.2.3 (2 балла). Определение типа аллельного взаимодействия генов a1, a2 и a3.

Проанализируйте полученные Вами при выполнении заданий 1.2.1 и 1.2.2 результаты, и определите тип аллельного взаимодействия генов a1, a2 и a3. (Условные обозначения: « B > b » полное доминирование, « B +b » кодоминирование, « B = b » неполное доминирование. Впишите буквы, соответствующие правильному ответу.

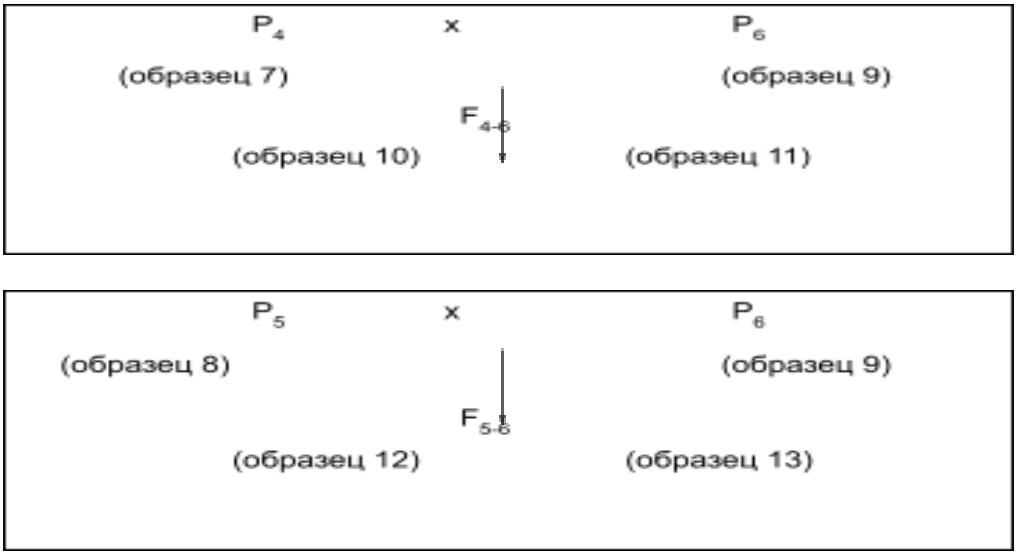
А. a1 > a2, a1 > a3, a2 = a3.
Б. a1 > a2, a1 > a3, a2 + a3.
В. a1 > a2 > a3.
Г. a1 > a3 > a2.
Д. a2 > a1, a2 > a3, a1 = a3.
Е. a2 > a1, a2 > a3, a1 + a3.
Ж. a2 > a1 > a3
З. a2 > a3 > a1.
И. a3 > a1, a3 > a2, a1 = a2.
К. a3 > a1, a3 > a2, a1 + a2
Л. a3 > a1 > a2
М. a3 > a2 > a1

1.2.3.:_____

ЗАДАНИЕ 1.3 (8 БАЛЛОВ). ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ P_4, P_5 И P_6 И ПОЛУЧЕННЫХ ГИБРИДОВ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ЦИКЛИЧЕСКОГО СКРЕЩИВАНИЯ.

Проведено скрещивание растений кладофоры P_4 (образец 7), P_5 (образец 8) и P_6 (образец 9) по следующей схеме:

Схема опыта № 2.



При скрещивании форм кладофоры P_4 и P_6 в поколении F_1 наблюдалось расщепление по признаку «уровень запасаемого клетками крахмала». Наблюдалось появление двух фенотипических классов в соотношении 1 : 1 (F_{4-6} образцы 10 и 11 соответственно). При скрещивании форм кладофоры P_5 и P_6 в поколении F_1 также наблюдалось расщепление по признаку «уровень запасаемого клетками крахмала». И также наблюдали появление двух фенотипических классов в соотношении 1 : 1 (F_{5-6} образцы 12 и 13 соответственно).

Вам даны три образца клеточных гомогенатов родительских растений P_4, P_5 и P_6, Они находятся в пробирках с обозначениями «образец 7», «образец 8» и «образец 9». Также Вам даны четыре образца клеточных гомогенатов, приготовленных из растений F_1 разных фенотипических классов. Они находятся в пробирках с обозначениями «образец 10», «образец 11», «образец 12» и «образец 13».

Вам необходимо решить следующую задачу:

- определив содержание крахмала в представленных образцах, определить генотипы родительских растений (P_4, P_5 и P_6) и полученных гибридных растений (**«образец 10», «образец 11», «образец 12» и «образец 13».**) по гену, отвечающему за количество запасаемого клетками крахмала.

Задание 1.3.1. (3,5 балла). Определение содержания крахмала в образцах 7-13.

1. Согласно методике, описанной в задании 1.1.1, определите содержание крахмала в образцах 7-13.
2. Запишите цвет полученного раствора для каждого из образцов в таблицы:

НОМЕР ПРОБЫ	образец 7	образец 8	образец 9
ОКРАСКА			

НОМЕР ПРОБЫ	образец 10	образец 11	образец 12	образец 13
ОКРАСКА				

Задание 1.3.2 (4,5 балла). Определение генотипов кладофоры (образцы 7-13).

Проанализируйте полученные Вами при выполнении задания 1.3.1 результаты и определите генотипы растений кладофоры, обозначенные как «образец 7», «образец 8», «образец 9», «образец 10», «образец 11», «образец 12» и «образец 13».

Запишите соответствующие генотипы в таблицу, **ИСПОЛЬЗУЯ ПРИНЯТЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ** (a1, a2 и a3).

РАСТЕНИЕ	образец 7	образец 8	образец 9
ГЕНОТИП			

РАСТЕНИЕ	образец 10	образец 11	образец 12	образец 13
ГЕНОТИП				

Задание 2 (5 баллов)

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛОКУСА, ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА ПРОЯВЛЕНИЕ ПРИЗНАКА "УРОВЕНЬ ЗАПАСНОГО ПИТАТЕЛЬНОГО ВЕЩЕСТВА КРАХМАЛА" У ЗЕЛЁНОЙ ВОДОРОСЛИ КЛАДОФОРЫ СКУЧЕННОЙ *Cladophora glomerata (L.) Kutz.*

Задание 2.1.1. (3 балла). Проанализируйте представленную ниже электрофореграмму рестрикции продуктов амплификации гена, ответственного за проявление признака «уровень запасного питательного вещества крахмала» у зеленой водоросли кладофоры скученной.

Результаты расщепления продуктов амплификации гена ответственного за проявление признака «уровень запасного питательного вещества крахмала» рестриктазами BamHI и EcoRI (на дорожке маркированной BamHI + EcoRI представлены продукты, полученные в результате совместного действия двух рестриктаз).

Генотип	**a1a1**			**a2a2**			**a3a3**		
Рестриктазы	BamHI	EcoRI	BamHI + EcoRI	BamHI	EcoRI	BamHI + EcoRI	BamHI	EcoRI	BamHI + EcoRI
Размер, п.н.									
1250									
1200								—	
1150									
1100									
1050									
1000					—				
950	—			—			—		
900									
850		—							
800									
750									
700									
650	—		—	—		—	—		—
600									
550		—			—			—	—
500									
450									
0			—			—			—
350		—	—			—			
300									
250									
200			—		—	—			
150	—		—	—		—	—		—
100									
50									

Постройте рестрикционные карты анализируемого локуса ДНК для аллелей **a1**, **a2** и **a3** изучаемого локуса.

На рестрикционных картах отметьте координаты сайтов распознавания для рестриктаз BamHI и EcoRI и размеры получаемых фрагментов.

<u>Задание 2.1.2. (2 балла).</u> Если исходить из того, что может иметь место только одно мутационное изменение, какие отличия относительно **a1** Вы наблюдаете в структурной организации молекулы ДНК аллелей **a2** и **a3**? Отметьте «+» верное утверждение, «---» неверное, пустые ячейки оцениваются как неверные.

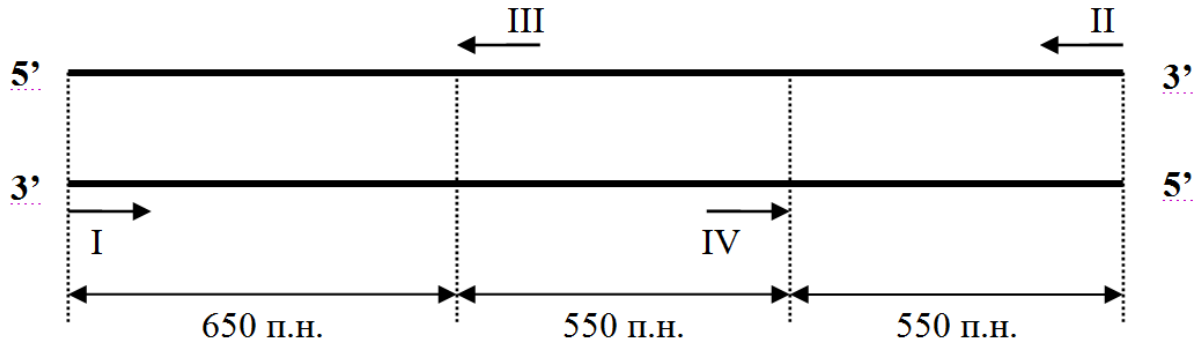
Относительно **a1**	у **a2**	у **a3**
Делеция протяженного участка		
Дупликация (вставка) протяженного участка		
Инверсия протяженного участка		
Точечная мутация		

Задание 3 (7,5 балла)

УСТАНОВЛЕНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ (ГЕНОТИПА) ПО ПРИЗНАКУ "УРОВЕНЬ ЗАПАСНОГО ПИТАТЕЛЬНОГО ВЕЩЕСТВА КРАХМАЛА" У ЗЕЛЁНОЙ ВОДОРОСЛИ КЛАДОФОРЫ СКУЧЕННОЙ *Cladophora glomerata (L.) Kutz.* МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Для выявления в геномах кладофоры скученной различных сочетаний аллелей гена **a** с использованием метода ПЦР, была Разработана система праймеров, специфично связывающихся с различными участками ДНК, а образуемые в результате реакции продукты позволяют однозначно определять различные мутационные изменения в последовательности гена. Вашему вниманию предлагается один из элементов этой системы - модель для поиска инверсии центрального участка длиной 550 н.п.

На представленном ниже рисунке схематично изображен фрагмент ДНК длиной 1750 п.н., соответствующий изучаемому гену **a** (аллель **a1**). Ориентация и позиции отжига праймеров I, II, III и IV показаны стрелками.



Задание 3.1. (7,5 баллов).

Фрагменты ДНК какого размера будут амплифицироваться в ходе ПЦР при использовании разных пар праймеров, если в качестве матрицы использовать ДНК выделенную из клеток кладофоры скученной гомозиготных по аллелю 1 (генотип a1a1), гомозиготных по аллелю 4 (генотип a4a4, произошла инверсия центрального участка длиной 550 п.н.) и гетерозиготных по двум этим аллелям? Результаты внесите в таблицу.

При формулировке ответа учитывайте, что праймеры имеют длину 20 нуклеотидов. При заполнении таблицы длину молекул ДНК указывайте в парах нуклеотидов (п.н.), если считаете, что ПЦР-продукты не будут образовываться – ставьте прочерк (-), незаполненные ячейки оцениваются как неверные.

Генотип организма	Размер продукта амплификации при использовании пары праймеров				
	I+II	I+III	II+IV	I+ IV	II+III
a1a1					
a4a4					
a1a4					