Место для баллов:	Код:

четвертый этап республиканской олимпиады по «Биологии» (2015-2016)

## КАБИНЕТ № 2 (26,1 баллов)

### БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются

Флаконы A, B, C, 10 % p-p CaCl<sub>2</sub>, p-p NaNO<sub>2</sub>, p-p гистидина, p-p Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, реактив Люголя, 10% p-p NaOH, 2 % p-p Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, препарировальная игла, 3-4 полоски фильтровальной бумаги Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

#### Биохимия

<u>Задание 1</u> (8,1 баллов). Проанализируйте состав содержимого флаконов A, B, C, используя качественные реакции:

I.~~K а чест венна я ~~p еа ки и я ~~на ~~ра ст вор и мые ~~мыла (на т~~ри евые ~~и ли

 $\underline{\kappa}$  а ли евые со ли высш и х жир ных  $\kappa$  и сло m).

К 3-м каплям p-pa мыла добавляют 2 капли 10 % p-pa CaCl<sub>2</sub>. Тщательно перемешивают и наблюдают появление осадка нерастворимого кальциевого мыла.

<u>II. Качест венная реакция на гистидин.</u>

Смешивают 3 капли сульфаниловой кислоты и 3 капли NaNO<sub>2</sub>. К полученному диазореактиву добавляют 3 капли раствора гистидина, перемешивают и добавляют 3 капли раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Появляется вишнево-красный цвет.

III. Качест венная реакция на крахмал.

К 3-м каплям p-pa крахмала добавляют 1 каплю peaктива Люголя. Появляется темно-синее окрашивание.

IV. Качест венная реакция на сахарозу.

К 3-м каплям p-pa сахарозы добавляют 1 каплю 10% p-pa NaOH и 1

каплю 2 % p-pa Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> . Появляется фиолетовое окрашивание. <u>V. Ка чест венна я р еа кц ия на б ело к .</u> К 3-м каплям белка добавляют 1 каплю 10% p-pa NaOH и 1 каплю 1 % p-pa CuSO<sub>4</sub>. Развивается красно-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивание.

Анализ проводите на полиэтиленовых пластинках, помещенных на лист белой бумаги. (Соответствующее количество капель наносите прямо на пластинку).

1.1. (6 баллов). Определите вещество (вещества), содержащиеся

Работайте аккуратно!

5) проба на белок

в растворах А, В и С, отв	еты внесите в таблицу.
Результаты анализа с	содержимого флакона А:
1) проба на наличие мыла	отрицательная
положительная	
(зд есь и б	далее верный ответ обведите кружком
2) проба на гистидин	отрицательная
положительная	отрицательная
3) проба на крахмал	отрицательная
положительная	отрицательная
4) проба на сахарозу	•
положительная	
5) проба на белок	
положительная	
<u>Результаты анализа</u>	отрицательная
содержимого флакон	<u>a B:</u>
1) проба на наличие мыла	
положительная	
<u>( 3à</u>	десь и далее верный от вет обведите кр
<u>уж</u>	<u>ко м)</u>
2) проба на гистидин	положительная
положительная	
3) проба на крахмал	
положительная	
4) проба на сахарозу	
положительная	

отрицательная отрицательная

## отрицательная отрицательная

Результаты анализа сод	<u>держимого флакона С:</u>
1) проба на наличие мыла	отрицательная
положительная	
(здесь и далее 2) проба на гистидин положительная 3) проба на крахмал	е верный ответ обведите кружком) отрицательная отрицательная отрицательная
положительная 4) проба на сахарозу положительная _ 5) проба на белок положительная	отрицательная

	Вещество (вещества)
Раствор А	
Раствор В	
Раствор С	

No	Вопр	Ответ
п	ос	
П		
1	Как называется реакция на белок с CuSO4 в	
.	щелочной	
$\sqcup$	среде?	
2	Будет ли реакция (см. п. 1) положительной с	
	дипептидами?	
3	Какие ковалентные связи должно иметь вещество,	
	чтобы реакция (см. п.1) была положительной?	
4	Сколько связей должно иметь вещество,	
.	чтобы	
	реакция (см. п. 1) была положительной?	
5	Какие вещества входят в состав реактива Люголя?	
6	Какая окраска разовьется при добавлении раствора	
	Люголя к раствору гликогена?	
7	Какой токсический продукт образуется в процессе	
	дезаминирования гистидина?	
8	Напишите формулу низкомолекулярного продукта	
.	преимущественно образующегося у человека при	
	детоксикации азотсодержащего соединения	
	реакции п.7.	

1.2. (*1,6 балла, по 0,2 за позицию*). Впишите в правую колонку таблицы ответы на вопросы.

-	_
_	_
_	

1.3.	(0,5)	бал	ла,	no	0,25	<i>3a</i>	позицию)	Ec	пи к	рист	алли	ческую
							растворить					
реаги	ровати	ь каі	к кис	лота	(доно	рпр	отона), или	как	осно	вани	іе (ак	цептор
протс	она),	то	есть	обл	адает	амо	ротерными	СВС	йства	ами.	Дог	ишите
уравн	нения р	реак	ции, и	иллю	стриру	ующі	ие:					

# Задание 2. (4 ба лла)

2.1. (1,5 балла, по 0,25 за позицию). Отметьте в таблице верные утверждения – «да», неверные – «нет».

№	Утвержден	«Да»
П	ие	или
П	В клетках многих	«не
	организмов:	T>>
1	первичное связывание аммиака происходит путем	
	ферментативного образования амидов –	
	глутамина и аспарагина.	
2	освобождающийся в тканях NH3 может сразу же	
	использоваться на синтез новых	
	аминокислот, например, путем	
	восстановительного	
	аминирования.	
3	из карбамоилфосфата образуются NH3 и CO2, при	
	это синтезируется 2 молекулы АТФ.	
4	Исходными соединениями для синтеза мочевины	
	являются СО2 и NH3.	
5	глутамин является своеобразной транспортной	
	формой NH <sub>3</sub> и временным его хранилищем.	
6	способность к обезвреживанию и выведению	
	аммиака путем синтеза органических соединений	
	характерна практически для всех	
	беспозвоночных и позвоночных животных.	

2.2 (2,5 балла, по 0,25 за позицию) Сопоставьте два утверждения или показателя (обозначены буквами А и Б), приведенные в каждом пункте этого раздела, и дайте ответ в форме: A>Б; A=Б. Значок «>», «<» или «=» внесите в среднюю графу таблицы.

1	А. Специфичность уреазы	<b>Б.</b> Специфичность фосфатазы
2	<b>А.</b> Скорость фосфофруктокиназной реакции в процессе гликолиза	<b>Б.</b> Скорость альдолазной реакции в процессе гликолиза
3	А. Увеличение содержания глюкозы в крови под действием норадреналина	<b>Б.</b> Увеличение содержания глюкозы в крови под действием адреналина



4	А. Соотношение РНК/ДНК в	Б. Соотношение РНК/ДНК в
	клетке при высоком	клетке при низком
	уровне биосинтеза белка	уровне белкового
	в ней	синтеза в ней

5	А. Количество видов	Б. Количество видов
	животных, у которых	животных, у которых
	транспорт О2 к тканям	транспорт О2 к тканям
	осуществляется с	осуществляется
	участием	другими
	пигментов типа гемоглобина	способами
6	А. Содержание холестерола	<b>Б.</b> Содержание холестерола
	В	В
	1 г серого вещества	1 г белого вещества
	полушарий головного	полушарий головного
	мозга	мозга
7	А. Устойчивость аминоацил-	<b>Б.</b> Устойчивость аминоацил-
	тРНК в слабощелочной	тРНК в кислой среде
	среде	
8	А. Интенсивность процессов	<b>Б.</b> Интенсивность процессов
	биосинтеза белков на	биосинтеза белков
	рибосомах, связанных с	на свободных
	эндоплазматической	рибосомах
	сетью клетки	_
9	А. Температура плавления	<b>Б.</b> Температура плавления
	куриного жира	свиного жира
10	А. Содержание остатков	<b>Б.</b> Содержание остатков
.	фосфорной кислоты в	фосфорной кислоты в
	молекуле	молекуле
	фосфатидилхолина	фосфатидилэтанолами
		на

Задание 3. (1 балл) Наиболее распространенным механизмом деструкции мембранных структур является перекисное окисление липидов (ПОЛ). С определенной скоростью ПОЛ протекает в нормальной клетке. Промежуточными (первичными) продуктами этого процесса являются гидроперекиси липидов. Метод, позволяющий определять содержание гидроперекисей жирных кислот (диеновых конъюгатов) в сыворотке крови и тканях, основывается на поглощении липидным экстрактом монохроматического светового потока в ультрафиолетовой области спектра (233 нм), так как молекулы с двумя сопряженными связями (диеновые конъюгаты) обладают максимумом поглощения при 233 нм.

Рассчитайте содержание первичных продуктов  $\Pi O \Pi$  (X) в условных единицах (у.е.) в пересчете на литр плазмы крови по формуле:

 $X (y.e./1 мл плазмы) = A_{233} \cdot V_{9} / V_{пл}, если:$ 

 $A_{233}$  — значение оптической плотности опытной пробы при  $\lambda$  —233 нм, = 0, 123; Vэ — конечный объем экстракта, = 4 мл; Упл — объем взятой плазмы крови, = 0,2 мл.

## <u>Микробиология</u>

Материалы, оборудование: кристаллизатор, стеклянные рейки, колба с водой (300–500 мл), 40–50 кусочков фильтровальной бумаги в чашке Петри, вата, пинцет металлический, 2 предметных стекла, зубочиски, пастеровская пипетка, спиртовка, коробок спичек, красители (0,5 %-ный водный раствор малахитового зеленого, водный раствор фуксина), минеральное масло в стеклянной баночке с глазной пипеткой, 4 чашки Петри с культурами бактерий на поверхности агаризованной питательной среды, микроскоп с объективам х90.

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

Задание 4 (9 ба лло в ) . Изучение окрашенных препаратов бактерий.

Предлагается исследовать две культуры одного и того же штамма бактерий, для этого необходимо приготовить 2 окрашенных препарата (по одному для каждой культуры) и изучить их под микроскопом. Культуры различаются по времени культивирования: культура 1 (на чашке  $\mathbb{N} \ 1$ ) культивировалась в течение 24 часов, а культура 2 (на чашке  $\mathbb{N} \ 2$ ) – в течение 72 часов.

Произведите окрашивание клеток бактерий по методу Шефера-Фултона, описанному ниже. Методика приведена для приготовления одного препарата бактерий, однако настоятельно рекомендуется готовить оба препарата одновременно.

1. Обезжирьте предметное стекло, для чего натрите поверхность, на которую будете наносить бактерии, сухим хозяйственным мылом, а затем удалите мыло при помощи сухого кусочка ваты.

- 2. Для приготовления мазка на чистое и обезжиренное предметное стекло нанесите каплю воды, в которую при помощи зубочистки внесите небольшое количество культуры исследуемого микроорганизма, тщательно размешайте и распределите полученную суспензию по поверхности стекла.
- 3. Высушите мазок при комнатной температуре в течение 2–3 минут.

  4. Зафиксируйте мазок, для чего пронесите предметное стекло 2–4

раза над пламенем спиртовки мазком вверх (стекло должно нагреться до такой степени, чтобы при прикосновении к тыльной стороне ладони вызывало легкое жжение). Поместите предметное стекло мазком вверх на стеклянные рейки над кристаллизатором.

- 5. Фиксированный мазок покройте кусочком фильтровальной бумаги, на которые нанесите 0,5 %-ный водный раствор малахитового зеленого так, чтобы бумага полностью пропиталась красителем. Нагрейте мазок в пламени спиртовки до появления паров. Как только пары станут заметными, остудите предметное стекло в течение некоторого времени (~20 секунд), затем снова нагрейте. Повторите процедуру нагрева 2–3 раза. Снова поместите стекло на рейки.
- 6. Используя пинцет, снимите фильтровальную бумагу с предметного стекла и выкиньте её в кристаллизатор, после чего тщательно промойте поверхность стекла водой из колбы до тех пор, пока не пропадут струйки зеленого цвета.
- 7. Нанесите на предметное стекло раствор фуксина так, чтобы краситель полностью покрыл мазок, через 30 секунд тщательно промойте его водой.
- 8. Используя фильтровальную бумагу, аккуратно (чтобы не повредить мазок), но тщательно удалите всю влагу с предметного стекла; при необходимости досушите стекло на воздухе 1–2 минуты; перед микроскопированием поверхность мазка должна быть совершенно сухой.
- 9. Для микроскопирования приготовленного окрашенного препарата с иммерсионной системой на сухой участок мазка нанесите каплю минерального масла. Погрузив объектив с самым большим увеличением в каплю масла, изучите препарат.
- 4.1 (3 ба лла). Определите и зарисуйте и подпишите типы клеток, которые вы наблюдали в исследованных препаратах, укажите цвет, в который они окрашиваются.

 4.2 (1 балл).
 Как называется тип клеток, который преобладает:

 4.2.1 в культуре № 1?

 4.2.2. в культуре № 2?

 4.3 (2 балла).
 Как наблюдаемые различия между культурами клеток связаны с временем культивирования? В чём причина этих различий?

Место для рисунка.

4.4 (3 ба лла). Обведите верные утверждения об исследуемых бактериях и типах образуемых ими клеток:



4.3.1 Возможность образовывать клетки разных типов позволяет бактериям данного вида размножаться быстрее.

- 4.3.2 Возможность образовывать клетки разных типов позволяет бактериям данного вида переносить такие неблагоприятные условия, как засуха и недостаток питательных веществ.
- 4.3.3 Возможность образовывать клетки разных типов позволяет бактериям данного вида эффективнее распространятся.
- 4.3.4 Чтобы один тип клеток перешёл в другой, необходимы 2 клеточных деления.
- 4.3.5 Исследуемые бактерии скорее всего окрашиваются по Граму отрицательно.
- 4.3.6 Среды, заражённые данными бактериями, можно простерилизовать автоклавированием.

## Задание 5 (4 ба лла). Изучение высева почвенных бактерий.

1 г исследуемой почвы развели в 100 мл стерильного физиологического раствора, затем, используя метод серийных разведений, развели ещё в 106 раз, после чего по 0,1 мл полученной суспензии распределили по поверхности агаризованной питательной среды в чашках Петри № 3 и № 4. Чашки поместили в термостат и инкубировали при 28  ${}_{\circ}$ С в течение 24 часов.

Рассмотрите чашки № 3 и № 4 (их можно открыть, но не трогайте агаризованную среду руками) и ответьте на следующие вопросы:

- 5.1 (1 ба лл). Какому количеству бактерий в 1 г исследуемой почвы соответствует одна изолированная колония на чашке № 3 или № 4?
- 5.2 (1 ба лл). Число колоний на чашках № 3 и № 4 различно, хотя высевали один и тот же объём из одной и той же суспензии, и чашки находились в одинаковых условиях. Что является причиной наблюдаемых различий?

5.3 (1 балл). Сколько раз образовали колонии на чашках № количестве видов в исходном образ
-

## 5.4 (1 ба лл). Обведите верные утверждения:

- 5.4.1 Одна изолированная колония на чашке Петри скорее всего представлена потомками одной единственной клетки
- 5.4.2 На обеих чашках Петри (№3 и №4) колоний микроорганизмов одного вида достоверно больше, чем другого, значит, и в исходном образце почвы будет наблюдаться такое же соотношение клеток этих микроорганизмов.
- 5.4.3 Можно достоверно утверждать, что исследуемые микроорганизмы связывают мутуалистические отношения.
- 5.4.4. Микроорганизмы, сформировавшие колонии на исследуемых чашках Петри, являются аэробными и неподвижными.