

Место для баллов:

Код:

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

КАБИНЕТ № 2 (33,5 баллов)

БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются

Глазные пипетки (15 шт.), пенициллиновые флакончики для реактивов (15 шт.), чашка Петри или одноразовая тарелка для размещения рабочих реактивов и исследуемых растворов (2), Файл (прозрачный пластиковый) или кусок полиэтилена формата с листом белой бумаги, Фильтровальная бумага размером 10х10 см или готовый фильтр.

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

Задание 1. (14,5 баллов). Проанализируйте состав содержимого флаконов А, В и С, используя качественные реакции.

I. Качественная реакция на сахарозу.

К 3-м каплям р-ра сахарозы добавляют 1 каплю 10% р-ра NaOH и 1 каплю 2 % р-ра $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$. Появляется фиолетовое окрашивание.

II. Качественная реакция на крахмал.

К 3-м каплям р-ра крахмала добавляют 1 каплю реактива Люголя. Появляется темно-синее окрашивание.

III. Качественная реакция на глицерин.

К 3-м каплям раствора глицерина добавляют 2 капли 10% р-ра NaOH и 2 капли 1 % р-ра CuSO_4 . Оставляют на 15 мин для развития окраски. Развивается слабо синее окрашивание вследствие образования глицерата меди.

IV. Качественная реакция на витамин С.

К 3-м каплям 1% р-ра аскорбиновой кислоты добавляют 1 каплю 5 % р-ра $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ и 1 каплю 1 % р-ра FeCl_3 . Оставляют на 5 минут для развития окраски. Жидкость приобретает зеленовато-синюю окраску и выпадает осадок берлинской лазури.

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

Работайте аккуратно!

1.1. (_3_ баллов, по 0,5 за позицию). Результаты анализа:

Раствор А: 1) проба на крахмал положительная отрицательная
(здесь и далее верный ответ обведите кружком)
2) проба на сахарозу положительная отрицательная
3) проба на глицерин положительная отрицательная
4) проба на витамин С положительная отрицательная

Раствор В: 1) проба на крахмал положительная отрицательная
2) проба на сахарозу положительная отрицательная
3) проба на глицерин положительная отрицательная
4) проба на витамин С положительная отрицательная

Раствор С: 1) проба на крахмал положительная отрицательная
2) проба на сахарозу положительная отрицательная
3) проба на глицерин положительная отрицательная
4) проба на витамин С положительная отрицательная

1.2. (_3_ баллов). Определите вещество (вещества), содержащееся в растворах А, В и С, ответы внесите в таблицу.

	Вещество (вещества)
Раствор А	
Раствор В	
Раствор С	

1.3. (_8,5_ баллов). Ответьте на вопросы:

Группа 1. (_2_ баллов).

А. К какой группе соединений относится глицерин?

трехатомный спирт _____

Б. Компонентом какой группы органических соединений, входящих в состав биологических мембран, является глицерин?

глицерофосфолипидов _____

В. Изобразите структурную формулу глицерина?

H₂COH-HCOH-H₂OH

Г. Какая группа биополимеров при взаимодействии с Cu SO₄ в щелочной среде дает сине-фиолетовое окрашивание?

белки, протеины, пептиды _____

Группа 2. (4 баллов).

А. Из каких моносахаридов состоят сахароза:

_____ **глюкоза, фруктоза** _____

Б. Какой из моносахаридов, входящих в состав сахарозы, подвергается превращениям в процессе гликолиза?

_____ **глюкоза** _____

В. Перечислите процессы, в результате которых происходит полное окисление глюкозы до CO₂ и H₂O? :

гликолиз, окислительное декарбоксилирование ПВК, цикл Кребса, перенос электронов по электрон транспортной цепи митохондрий на кислород.

Г. Укажите, сколько молекул АТФ образуется непосредственно в процессе гликолиза.

Группа 3. (1 баллов).

А. К какой группе соединений относится крахмал?

_____ **гомополисахарид, гомополигликан** _____

Б. Какая группа организмов осуществляет синтез крахмала и в каких структурах клетки он накапливается?

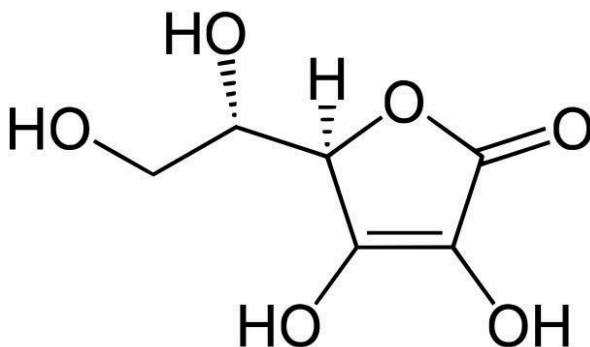
___ **автофототрофы, в цитоплазме** _____

Группа 4. (1,5 баллов).

А. К какому классу соединений относится аскорбиновая кислота?

_____ **органические кислоты** _____

Б. Изобразите структурную формулу витамина С.



В. Назовите заболевание, которое развивается при недостатке в организме витамина С.

___ **цинга** _____

Задание 3 (4 баллов).

Метод определения общих липидов в сыворотке крови основан на том, что продукты распада ненасыщенных липидов образуют с реактивом, состоящим из серной, ортофосфорной кислот и ванилина, соединение красного цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию общих липидов.

Расчет содержания общих липидов (X) в г/л в крови производят по формуле:

$$X = \frac{A_{np} \cdot C}{A_{cm}},$$

где A_{np} – экстинкция, полученная после измерения интенсивности окраски опытной пробы на фотоэлектроколориметре;

A_{cm} – экстинкция, полученная после измерения интенсивности окраски стандартной пробы на фотоэлектроколориметре;

C – содержание липидов (олеата натрия) в стандартном растворе в (г/л).

Нормальные величины содержания общих липидов в сыворотке крови здоровых людей составляют 4-8 г/л.

Определите содержание липидов в сыворотке крови человека, если $A_{np} = 0,180$; $A_{cm} = 0,124$; $C = 8$ г/л. Расчет запишите.

Сравните полученный результат с показателями нормы, запишите ответ. Рассчитайте, на сколько процентов по отношению к нижней и верхней границам нормы, изменен данный показатель у больного? (Расчет запишите). Подумайте и ответьте, по отношению к какому показателю нормы (нижней предел или верхний предел), верно рассчитывать процент изменения показателя у больного?

Ответ: $X = 0,180 \times 8 / 0,124 = 11,6$ г/л, это выше границ нормы.

Показатель в процентах по отношению к нижней границе нормы $11,6 \times 100 / 4 = 290$ %. Выше нижней границы нормы на 190 %.

Показатель в процентах по отношению к верхней границе нормы $11,6 \times 100 / 8 = 145$ %. Выше верхней границы нормы на 45 %.

по отношению к какому показателю нормы, верно рассчитывать процент изменения показателя у больного Если показатель выше нормы, верно рассчитывать по отношению к верхнему пределу нормы. Если показатель ниже нормы, верно рассчитывать по отношению к нижнему пределу нормы.

Задание 4 (10 баллов). Определите, к какому виду относится исследуемая бактериальная культура, на основании результатов предложенных тестов и таблицы.

Внимательно читайте и анализируйте технику и результаты каждого теста!

А) Определение грампринадлежности (тест Греггера). Твердую культуру исследуемых бактерий бактериологической петлей внесли в каплю 3 %-ного водного раствора КОН на предметном стекле и в течение 1 мин тщательно перемешивали. **Результат:** после воздействия раствора щелочи на клетки, взвесь ослизняется и за петлей тянутся тонкие слизистые нити.

Б) Форма клеток. После окрашивания фиксированного мазка бактериальной культуры простым методом с использованием водного раствора фуксина препарат исследовали под микроскопом. **Результат:** в поле зрения по одиночно располагаются мелкие красного цвета клетки вытянутой формы.

В) Подвижность. Исследуемую культуру засеяли уколом в столбик 0,3 %-ной полноценной агаризованной питательной среды в пробирке и инкубировали в течение 48 ч. **Результат:** наблюдается равномерное диффузное помутнение среды во всем объеме, место укола практически не различимо.

Г) Окислительное (ферментативное) сбраживание углеводов (O/F тест, или окислительно-броидильная проба). Для определения типа ферментации глюкозы использовали полужидкую агаризованную среду Лейфсона, содержащую неорганические соли, источник азота, глюкозу и индикатор. При нейтральных значениях pH данная среда окрашена в зеленый цвет; при подкислении, обусловленном процессами ферментации глюкозы, – становится желтой.

В две пробирки со средой Лейфсона с помощью бактериологической петли уколом внесли исследуемую культуру. Затем на поверхность столбика агаризованной среды в одной из пробирок для создания анаэробных условий наслоили стерильное вазелиновое масло («анаэробная пробирка»). Другая пробирка осталась в неизменном виде («аэробная пробирка»). Пробирки инкубировали в течение 48–72 ч. **Результат:** среда изменила цвет с зеленого на желтый в обеих пробирках.

Д) Выявление каталазы. Стерильной бактериологической петлей исследуемую твердую бактериальную культуру внесли в каплю 3 %-ного раствора перекиси водорода на предметном стекле и тщательно перемешали. **Результат:** наблюдается активное выделение пузырьков газа.

Е) Выявление оксидазы. Исследуемую твердую бактериальную культуру внесли в каплю 1 %-ного раствора дигидрохлорида тетраметил-*n*-фенилендиамина на предметном стекле и тщательно перемешали. **Результат:** в течение 1 мин развитие характерной розово-красной окраски суспензии зарегистрировано не было.

Ж) Протеолитическая активность. Исследуемую твердую бактериальную культуру засеяли медальоном на поверхность агаризованной среды, содержащей обезжиренное молоко, в чашке Петри и инкубировали в течение 72 ч. **Результат:** вокруг медальона формируется оптически прозрачная зона.

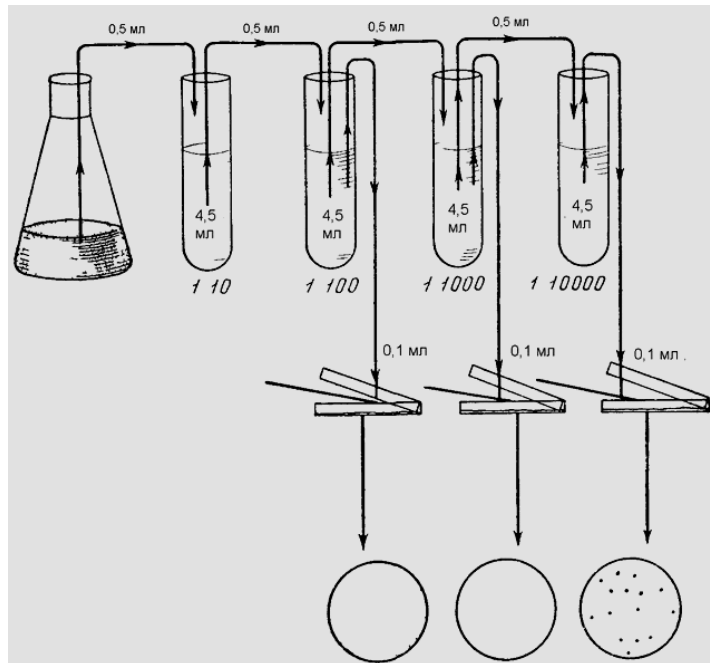
З) Амилолитическая активность. Исследуемую твердую бактериальную культуру засеяли медальоном на поверхность полноценной питательной среды, содержащей 0,2 % растворимого крахмала, в чашке Петри. Через 72 ч инкубирования на поверхность данной среды нанесли раствор Люголя.

Результат: поверхность питательной среды вокруг медальона окрашивается в сине-фиолетовый цвет.

<i>Вид бактерий</i>	Гра мп рин адл ежн ост ь	Фо рм а кл ето к	П од ви ж но ст ь	О/ F те ст	О бр аз ов ан ие ок си да зы	О бр аз ов ан ие ка та ла зы	О бр аз ов ан ие пр от еа зы	О бр аз ов ан ие ам ил аз ы
<i>Escherichia coli</i>	-	П	+	F	-	+	+	-
<i>Xanthomonas campestris</i>	-	П	+	O	-	+	+	-
<i>Pantoea agglomerans</i>	-	П	+	F	-	+	-	-
<i>Clavibacter michiganensis</i>	+	П	-	O	-	+	-	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	+	К	-	F	-	+	-	-
<i>Pseudomonas putida</i>	-	П	+	O	+	+	+	-
<i>Sarcina lutea</i>	+	К	-	F	-	+	+	-
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	-	П	+	O	+	+	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	П	+	O	+	+	+	-
<i>Bacillus subtilis</i>	+	П	+	F	-	+	+	+
<i>Streptococcus lactis</i>	+	К	-	F	-	-	+	+

Ответ: ***Escherichia coli***

Задание 5 (5 баллов). Определите титр клеток в исходной бактериальной суспензии, разведения которой осуществляли в соответствии со схемой.



Высев бактериальной суспензии на агаризованные питательные среды в чашках Петри производили из двух последних пробирок, содержащих 10^{-3} и 10^{-4} клеток, соответственно. Причем высев из каждого разведения осуществляли параллельно на две чашки Петри. После 24 ч инкубирования в оптимальных условиях производили подсчет числа выросших на агаризованных средах колоний, исходя из того, что каждая из них – потомство одной клетки.

Определите количество клеток в 1 мл исходной бактериальной культуры, если при высеve из 3-ей пробирки на средах сформировались 301 и 279 колоний, а при высеve из 4-ой пробирки – 26 и 32.

Ответ: **$2,9 \times 10^6$**