Место для баллов:	Код:

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

КАБИНЕТ № 3 (*25 баллов*)

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются
соцветие традесканции *Tradescantia* (клон 02), капельница с 45 % уксусной кислотой, капельница с 1 % раствором ацетоорсеина в 45 % уксусной кислоте, предметное стекло, 2 покровных стекла, 2 препаровальные иглы, фильтровальная бумага, исследовательский микроскоп.
Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Цитогенетика (*15 баллов*)

Задание 1 *(8 баллов).* Приготовление препаратов тетрад микроспор традесканции *Tradescantia* (клон 02) для анализа методом световой микроскопии.

Традесканция (клон 02) — наиболее часто используемый растительный объект для оценки мутагенных свойств химических и физических факторов *in situ.* Клон был получен из природной популяции и является гибридом между *Tradescantia occidentales Pritton* ex. Rydb. и *Tradescantia ohiensis* Raf.

В ряде исследований по радиационному и химическому мутагенезу было установлено, что клетки традесканции (клон 02) близки по чувствительности к клеткам животных организмов в отношении потери репродуктивной способности. Генетическая же изменчивость данного объекта минимальна, так как объект представляет собой вегетативно размножающийся клон.

С помощью традесканции (клон 02) выявляют действие

факторов внешней среды на генетический аппарат генеративных

клеток. Для этого изучают появление микроядер и других аберраций хромосом в мейозе на стадии тетрад микроспор.

Тетрада (от греч. tetras, род. падеж tetrados четвёрка) — характерная для растений группа из четырёх клеток, образующихся в результате мейоза из одной материнской диплоидной клетки (микроспороцита или мегаспоры).

Ход работы

1. Выложите соцветие на предметное стекло и, удерживая его одной препаровальной иглой, отделите второй препаровальной иглой развивающийся цветок.

ВНИМАНИЕ!!! Клетки на стадии тетрад микроспор находятся в 3-5 цветке от начала соцветия (см. рисунок). Для того, чтобы сделать «удачный» препарат, придется отделить несколько цветков.

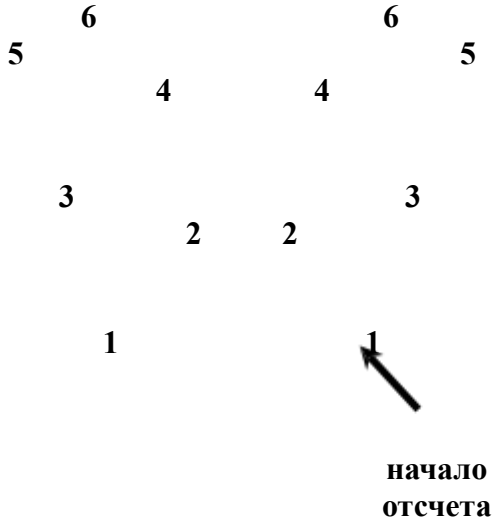


Рис. 1 – Схема соцветия

2. Из цветка осторожно с помощью препаровальных игл извлеките пыльники и оставите их на предметном стекле. Остальное следует с помощью игл и фильтровальной бумаги удалить с предметного стекла.

3. Нанесите на пыльники 1-2 капли ацетоорсеина, и держа препарат за края стекла, подогрейте над пламенем спиртовки 1-2 мин. Окрашивать пыльники необходимо до однородного темно-красного цвета.

ВНИМАНИЕ!!! Не перегревайте препарат! Не допускается вскипания красителя! Нужную степень нагревания можно контролировать при прикосновении предметного стекла к руке: стекло не должно обжигать руку. Если краситель испариться, его нужно добавить еще раз.

4. Оставьте пыльники в капле красителя на 3-5 мин для более интенсивного окрашивания.

5. Отмойте пыльники от остатков высохшего красителя, добавив несколько капель 45 % раствора уксусной кислоты и промокнув предметное стекло фильтровальной бумагой.

6. На готовый препарат нанесите каплю 45 % раствора уксусной кислоты и накройте покровным стеклом. Аккуратно надавите на покровное стекло без бокового смещения, добиваясь разрушения пыльника, а также полного и равномерного распределения клеток в один слой.

7. Найдите на препарате стадию тетрад микроспор. **После того, как окончите работу поднимите руку и попросите, чтобы к Вам подошел преподаватель и оценил качество выполнения препарата.**

Оценка за качество препарата _____.

<u>За д а ни е 2</u> (*6 баллов*). Зарисуйте стадию тетрад микроспор , указав на рисунке следующие структуры:

- **каллоза;**
- **первичная экзина (примэкзина);**
- **микроспора;**
- **ядро микроспоры.**

Место для рисунка:

Оценка за рисунок _____.

За д а ни е 3 ***(1 балл).*** **Укажите относительное число хромосом (*n*) и относиельное число хроматид (*m*) для одной клетки в составе тетрады и для всей тетрады в целом. Данные внесите в таблицу.**

	Количество хромосом (n	Число хроматид (m

	)	)
Отдельная клетка в тетраде		
Тетрада в целом		

Генетика и молекулярная биология (10 *баллов*)

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются
штатив; 2 пробирки с пигментом, выделенным из венчика анализируемых растений Традесканция Андерсона (промаркированные «Р1» и «Р2»); 2 пробирки с 4 мл воды (промаркированные «образец Р1» и «образец Р2», 2 пробирки с 10 мл воды, 2 пипетки, 2 кюветы для спектрофотометрических исследований, фильтровальная бумага, химический стакан.
Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Задание 4 (*6 баллов*). Определение генотипа гибридных форм Традесканции Андерсона (*Tradescantia andersoniana*).

Используя предложенную ниже информацию, определите генотип Растения 1 (Р1) и Растения 2 (Р2), которые были использованы для получения вытяжек пигмента из венчика, если известно, что:

под названием **Традесканция Андерсона (*Tradescantia andersoniana*)** обычно понимают садовые гибриды, полученные с участием традесканции виргинской. Окраска цветков у изучаемых гибридов находится под контролем двух генов. Аллель *I* определяет окрашенный венчик, а i – неокрашенный (белый). Характер окраски венчика определяется серией множественных аллелей гена А, по порядку доминирования аллели можно расположить следующим образом: A_V (фиолетовая) > a_p (пурпурная) > a_w (белая);

пигмент, полученный из венчика гомозиготных растений с фиолетовыми цветками, имеет максимум поглощения при длине волны в 590 нм;

пигмент, полученный из венчика гомозиготных растений с пурпурными цветками, имеет максимум поглощения при длине волны в 572 нм;

в венчике белых растений с генотипом Ia_wa_w пигмент не выявляется;

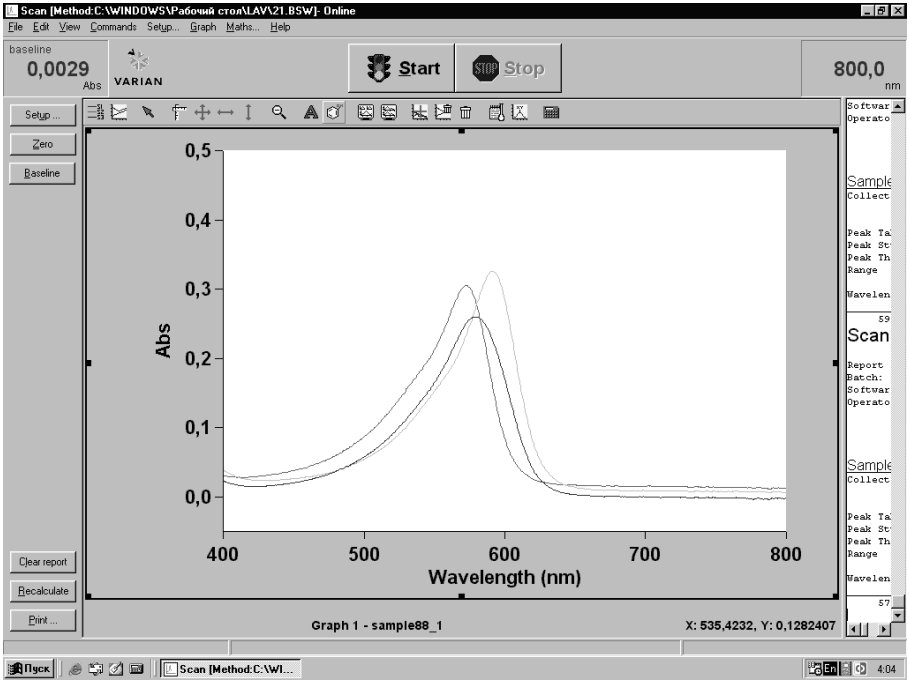
у Растения 1 и Растения 2 венчик имеет фиолетовую окраску.

Ход работы

1. С помощью пипетки внесите равное (!) количество пигмента (1 мл или 8-12 капель) из пробирок **«Р1»** и **«Р2»** в пробирки промаркированные **«образец Р1»** и **«образец Р2»**, перемешайте до равномерного окрашивания водного раствора. Содержимое пробирок аккуратно перенесите в кюветы для спектрофотометрического анализа (заполнять кювету до матового канта).

2. Возьмите кюветы, бланк ответов, ручку и подойдите к столу, на котором установлен спектрофотометр. Передайте оператору кювету с образцом и следите за построением на мониторе графика спектра поглощения изучаемого образца. Запишите в бланк ответов, значения, указанные оператором.

   Вид рабочей области программы Scan



3. Проделайте аналогичные процедуры со вторым образцом. Заполните таблицу и дайте на подпись оператору.

	X Wavelenght (nm) (формат записи 535,4)	Y Abs (формат записи 0,128)
образец P1		
образец P2		

Подпись оператора_____

4. По окончании измерений вернитесь на свое рабочее место, содержимое кювет вылейте в стакан, кюветы трижды промойте дистиллированной водой (из пробирок с 10 мл воды) и поставить сушиться на фильтровальную бумагу.

Проанализируйте представленную схему скрещивания:

P:	Растение 1 x фиолетовый венчик	ii_pa_p белый венчик	P:	Растение 2 x фиолетовый венчик	ii_pa_p белый венчик
F_a:	белый венчик	50%	F_a:	белый венчик	50%
	фиолетовый	40%		фиолетовый	10%
	пурпурный	10%		пурпурный	40%

5. Используя полученные Вами данные по спектрофотометрии и анализирующему скрещиванию, определите генотип Растения 1 и Растения 2. Заполните предложенную таблицу (если Вы считаете,

что указанные гаметы не могут быть образованы у данного организма, в соответствующей ячейке пишем «0» или «нет»).

Генотип гамет	Частота образования гамет, %	
	Растение 1	Растение 2
I^A_v		
I^a_p		
I^a_w		
i^A_v		
i^a_p		
i^a_w		

Генотип Растения 1 _____

Генотип Растения 2 _____

Комбинация родительских форм	Ожидаемая доля фенотипических классов в F_1 (%)		
	фиолетовая	пурпурная	белая
P1 x P1			

P2 x P2			
P1 x P2			

<u>За д а ни е 5</u> (*4 балла).* Укажите ожидаемое соотношение фенотипических классов в F_1 при скрещивании между собой анализируемых растений P1 и P2. Данные внесите в таблицу.