

**25th INTERNATIONAL BIOLOGY OLYMPIAD**

5 – 13 July, 2014

INDONESIA



**ПРАКТИЧЕСКИЙ ТЕСТ 3**

**АНАТОМИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА ЖИВОТНЫХ**

Количество баллов: **93,5**

Продолжительность: 90 минут

СТРАНА: .....

СТУДЕНТ: .....

Дорогие участники

1. В этом тесте вам предложены следующие три задания:  
**Часть А.** Немедленная реакция мальков рыб на изменение солёности (12 баллов)  
**Часть В.** Рассчет  $LC_{50}$  (19,5 баллов)  
**Часть С.** Классификация креветок (62 балла)
2. Для ответов на все вопросы используйте **Лист Ответов**.
3. Ответы, вписанные в Листы с Вопросами, оцениваться **НЕ будут**.
4. Вписывайте ваши ответы чётко и только ручкой.
5. Пожалуйста, убедитесь, что вам предоставлены все материалы и оборудование для каждого из заданий. **В случае, если какой-нибудь предмет отсутствует, немедленно поднимите руку.**
6. Закончите отвечать на вопросы и отложите ручку **немедленно** после звонка.
7. По окончании теста вложите Лист Ответов и Листы с вопросами в предоставленный конверт. Ассистент заберёт ваш конверт.
8. **Примечание:** Вам предоставлены увеличительное стекло с подсветкой и настольная лампа. Убедитесь перед началом работы, что оба прибора работают исправно.
9. Вы можете работать над заданиями в любом порядке. Каждое задание является независимым от других.
10. Вы можете использовать Лист задания как черновик для ваших расчетов.

## Материалы и оборудование

### Материалы

Креветки на подносе

**Количество Единица**

6                    представителей

### Оборудование

Набор для препарирования

Увеличительное стекло с подсветкой

Настольная лампа

Карандаш

Бумажные салфетки

Скатерть

Перчатки

Защитная маска

Этикетка

Калькулятор

Точилка

Линейка

**Количество Единица**

1                    набор

1                    набор

1                    набор

1                    штука

1                    коробка

1                    штука

1                    штука

1                    штука

1                    лист

1                    штука

1                    штука

1                    штука

**Примечание:** Используйте предоставленные материалы правильно и по назначению!  
Дополнительные материалы для проведения эксперимента выдаваться не будут.

### Часть А

#### Острый ответ мальков рыб на резкое изменение солёности (17 баллов)

##### Введение

В Индонезии концентрация соли в лиманах сильно зависит от сезона. Сильные осадки в период дождей снижают концентрацию соли, тогда как в сухой период уменьшение объёма воды повышает ее концентрацию.

Мальки рыбы очень чувствительны к изменению солёности воды, изменение которой они могут компенсировать за счет осморегуляции, если солёность остаётся в пределах **зоны толерантности**. Если рыба сталкивается с солёностью, выходящей за пределы зоны толерантности (либо выше либо ниже), механизмы осморегуляции не справляются, и соль становится токсичной для этой рыбы. Цель данного эксперимента состоит в определении реакции мальков молочной рыбы (*Chanos chanos* Lacépède) на резкие изменения солёности.



### Проведение эксперимента

Для определения смертности мальков в результате быстрого изменения солености по 10 мальков были перенесены из раствора соли с концентрацией 0,4 М в растворы с разными концентрациями соли. Через 5 минут было подсчитано число умерших мальков. В таблице ниже представлены результаты трех повторов данного эксперимента.

Соленость	Число мертвых мальков			Положение мертвых мальков в банке		
	повтор 1	повтор 2	повтор 3	На поверхности раствора	В середине раствора	На дне банки
2 М	9	10	8	26	1	0
1.6 М	7	6	9	18	3	1
1.2 М	5	5	6	12	4	0
0.8 М	2	3	2	1	5	1
0.4 М	1	2	0	0	2	1
0 М	4	3	3	0	1	9

### Анализ данных

**Question 1.1** Постройте кривую зависимости средней (по трем повторам) смертности (mortality, "M") от концентрации соли ("S") в Листе Ответов (6 баллов).

**Question 1.2** Отметьте на графике концентрацию, которая вызывает смертность 50% мальков рыб (2 балла).

**Question 1.3** Что является наиболее вероятной причиной смерти большинства мальков в этом эксперименте? (2 балла)

- A. По сравнению с растворами соли рыбы имеют гипертоническую внутреннюю среду и поэтому умирают от воды, поступающей в их ткани.
- B. Высокая концентрация соли повышает вязкость воды, что в свою очередь увеличивает потребность в энергии, необходимой для движения и дыхания рыбы.
- C. Высокая концентрация соли снижает доступность кислорода для рыб.
- D. Рыбы умирают от удушья (аноксии) из-за повреждения тканей жабр, вызванного большой разницей водного потенциала между внутренней средой их тела и окружающей средой.

**Question 1.4** Что в этом эксперименте является наиболее вероятной причиной всплытия мертвых мальков на поверхность в растворе с высокой концентрацией соли?  
**(2 балла)**

- A. Вес тела рыбы снижается из-за потери воды тканями.
- B. Плотность тела рыбы снижается поскольку тканевая жидкость является более разбавленной по сравнению с окружающим раствором соли.
- C. Внутри тела накапливается газ из-за разложения тканей.
- D. Рыбы теряют способность контролировать плавательный пузырь.

**Часть В:**  
**Расчет LC<sub>50</sub> (19,5 баллов)**

**Введение**

Обычно аквакультура в Индонезии обеспечивается водой за счет имеющихся в стране рек. В последнее время этим хозяйствам стали угрожать различные химические вещества, в том числе инсектициды, смываемые с полей в реки. Стандартный метод для определения токсичности таких веществ основан на определении концентрации, при которой гибнет 50% исследуемых животных. Эта концентрация получила название “концентрации, вызывающей 50% летальность” или LC<sub>50</sub>.

В таблице ниже представлены результаты такого эксперимента по определению токсичности известного инсектицида для мальков рыбы. Определите LC<sub>50</sub> этого инсектицида для мальков.

No	Концентрация [мкМ]	Тестируемые мальки	Количество мёртвых мальков
1	10,2	50	44
2	7,7	50	42
3	6,5	50	35
4	5,1	46	24
5	4,4	50	22
6	3,8	50	16
7	3,2	50	11
8	2,6	50	6

**Анализ Пробит**

Эффективным способом расчета LC<sub>50</sub> на основании таких данных является расчет так называемых Единиц Вероятности (Probability Unit), или Анализ Пробит, который основан на методе линейной регрессии. Основная идея анализа заключается в определении взаимосвязи между log<sub>10</sub> концентрации инсектицида (x) и уровнем смертности, выраженным в пробитах (y), как линейной функции  $y = a + bx$ . Для доказательства линейности функции смертность вначале выражается в пробитах, определяемых положением значения в стандартном нормальном распределении. Вы можете провести этот пересчёт при помощи таблицы Finney (Finney, 1952) (Таблица 1). В качестве примера использования этой таблицы возьмите уровень смертности 17%, для которого пробит находится в строке «10» и в столбце «7» и составляет -0,95. Пробит для уровня смертности 50% составляет 0,00 (смотри Таблицу 1).

Таблица 1

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		-2,33	-2,05	-1,88	-1,75	-1,64	-1,55	-1,48	-1,41	-1,34
10	-1,28	-1,23	-1,18	-1,13	-1,08	-1,04	-0,99	-0,95	-0,92	-0,88
20	-0,84	-0,81	-0,77	-0,74	-0,71	-0,67	-0,64	-0,61	-0,58	-0,55
30	-0,52	-0,5	-0,47	-0,45	-0,41	-0,39	-0,36	-0,33	-0,31	-0,28
40	-0,25	-0,23	-0,2	-0,18	-0,15	-0,13	-0,1	-0,08	-0,05	-0,03
50	0,00	0,03	0,05	0,08	0,1	0,13	0,15	0,18	0,2	0,23
60	0,25	0,28	0,31	0,33	0,36	0,39	0,41	0,44	0,47	0,5
70	0,52	0,55	0,58	0,61	0,64	0,67	0,71	0,74	0,77	0,81
80	0,84	0,88	0,92	0,95	0,99	1,04	1,08	1,13	1,18	1,23
90	1,28	1,34	1,41	1,48	1,55	1,64	1,75	1,88	2,05	2,33

**Question 2.1** Для концентраций инсектицида, обозначенных номерами 2, 4 и 7, определите  $\log_{10}$  концентраций, рассчитайте уровень смертности и переведите его в пробиты. Впишите ваши результаты в таблицу в **Листе Ответов (4,5 балла)**.

**Примечание:** Проводите все расчёты в этом задании с точностью двух знаков после запятой. Исключение составляет определение уровня смертности, где ваши результаты надо выразить в целых числах.

Наклон  $b$  и отрезок  $a$  линейного уравнения можно определить для  $n$  точек при помощи метода наименьших квадратов:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i - \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{1}{n} \left( \sum_{i=1}^n x_i \right)^2} \quad a = \frac{1}{n} \left( \sum_{i=1}^n y_i - b \sum_{i=1}^n x_i \right)$$

**Question 2.2** Рассчитайте  $x_i^2$  и  $x_i y_i$  для концентраций инсектицида под номерами 2, 4 и 7 и впишите ваши результаты в таблицу в **Листе Ответов (3 балла)**.

**Question 2.3** Рассчитайте все требуемые суммы **(4 балла)**.

**Question 2.4** Используйте приведённые выше уравнения для определения наклона кривой и отрезка, отсекаемого прямой на оси ординат **(4 балла)**.

**Question 2.5** Используя рассчитанные вами наклон прямой ( $b$ ) и величину отрезка ( $a$ ), определите  $LC_{50}$  этого инсектицида для мальков рыбы. Предоставьте результат в мкМ **(4 балла)**



### Часть С (62 балла)

#### Классификация креветок

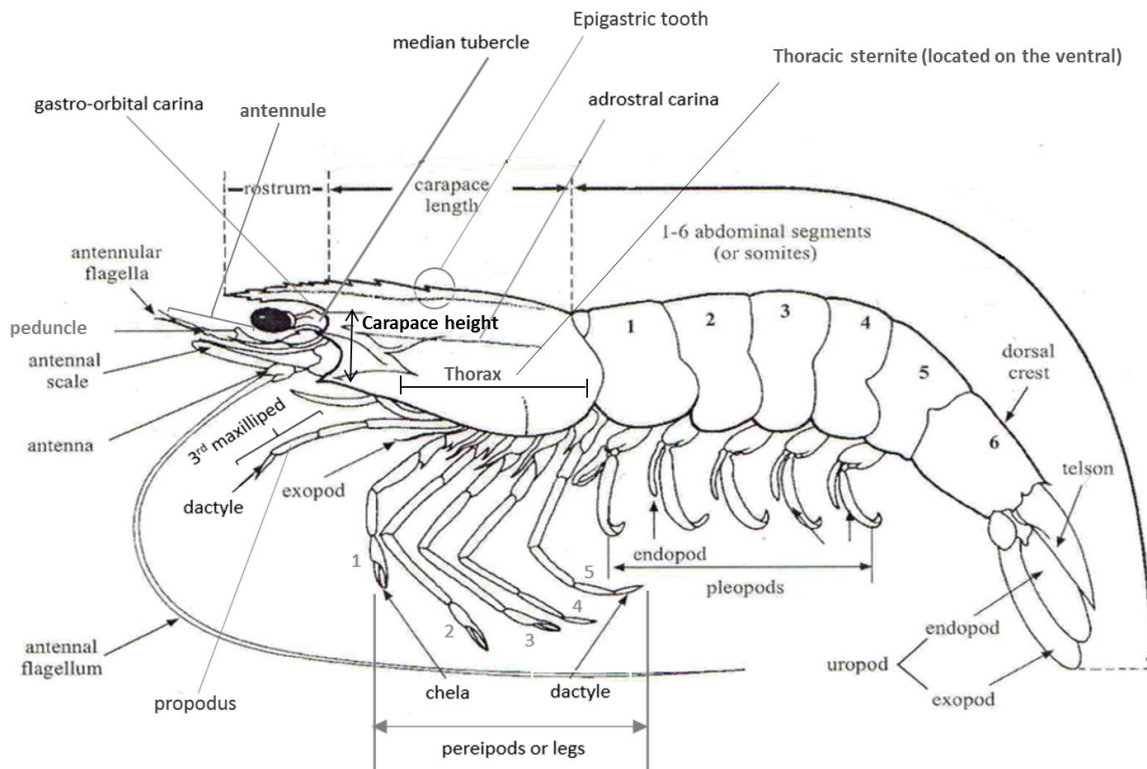
##### Введение

Индонезия считается одним из основных производителей различных видов креветок в аквакультуре в мире. В зависимости от условий окружающей среды на разных участках побережья культивируются разные виды креветок. Цель этого задания состоит в определении наиболее известных видов креветок Индонезии и установлении их филогенетических связей на основе их морфологических признаков. Вы можете использовать увеличительное стекло, препаровальный набор, пинцет и препаровальные иглы, предоставленные вам.

**Примечание:** Повреждение образца не будет приводить к снятию баллов. В этой практической работе два образца относятся к одному виду.

##### Определение креветок

**Question 3.1** Определите всех креветок до вида при помощи следующего ключа. Для идентификации требуемых морфологических признаков рассмотрите рисунок ниже (15 баллов).



Вид сбоку

### Ключ для идентификации креветок

**Note:** Дефис ( - ) в строке *b* указывает на отсутствие признака, описанного в предшествующей строке *a*.

1. a. Вторая грудная нога (pereopod) больше и длиннее чем остальные грудные ноги (2)  
b. - (4)
2. a. Передний край скафоцерита (antennal scale) сильно выдается вперед (на или вблизи средней линии) **Macrobrachium rosenbergii**  
b. - (3)
3. a. 4-й грудной стернит (thoracic sternite) с чётким срединным швом **Macrobrachium australiense**  
b. - **Macrobrachium koomboolomba**
4. a. Рострум (rostrum) с вентральными зубчиками (12)  
b. - (5)
5. a. Тельсон (telson) с неподвижными субапикальными шипами (6)  
b. - (9)
6. a. Тельсон (telson) с одной парой неподвижных субапикальных шипов (7)  
b. Тельсон (telson) с тремя парами неподвижных субапикальных шипов (11)
7. a. Ногочелюсть (maxilliped) 3 и грудная нога (pereopod) 2 с шипами на внутренней стороне основания **Metapenaeopsis barbata**  
b. - (8)
8. a. Панцырь (carapace) с продольным швом (10)  
b. - **Penaeopsis eduardoi**
9. a. Грудная нога (pereopod) 5 снабжена экзоподитом (exopod) **Trachypenaeus curvirostris**  
b. - **Metapenaeus monoceros**
10. a. Рострум (rostrum) такой же длины, как ножка (peduncle) антеннулы и скафоцерит (antennal scale) **Parapenaeus australiensis**  
b. Рострум (rostrum) короче ножки (peduncle) антеннулы и скафоцерита (antennal scale) **Parapenaeus sextuberculatus**
11. a. Рострум (rostrum) с 4-6 дорзальными зубчиками **Funchalia villosa**  
b. Рострум (rostrum) с 10-13 дорзальными **Funchalia woodwardi**

- зубчиками
12. a. Высота гастро-орбитального кия (gastro-orbital carina) составляет как минимум половину высоты панциря (carapace height) в том же месте (13)
- b. - *Penaeus merguensis*
13. a. Рострум (rostrum) с 6-7 дорзальными и 3 вентральными зубчиками *Penaeus monodon*
- b. Рострум (rostrum) с 8-9 дорзальными и 2 вентральными зубчиками *Litopenaeus vannamei*

### Создание матрицы признаков и матрицы сходства

В этом задании вам необходимо на основании морфологических признаков установить филогенетические взаимосвязи между шестью представителями креветок. Вначале вам придётся создать для каждого представителя матрицу признаков, которая представляет собой список наличия или отсутствия морфологических признаков, перечисленных ниже. Для идентификации необходимых признаков воспользуйтесь рисунком из Задания 3.1.

Номер	Описание
1	Вторая грудная нога (pereopod) больше и длиннее чем остальные грудные ноги
2	На глазной ножке чётко выраженный бугорок (median tubercle)
3	Верхний усик антеннулы почти равен нижнему, присоединен к вершине третьего сегмента антеннулы
4	Передний край скафоцерита (antennal scale) сильно выдается вперед (на или вблизи средней линии)
5	Высота гастро-орбитального кия (gastro-orbital carina) составляет как минимум половину высоты панциря (carapace height) в том же месте
6	Рострум (rostrum) с вентральными зубчиками
7	Лезвие рострума (rostrum) высокое, треугольное по форме
8	Тельсон (telson) с одной парой неподвижных шипиков
9	Гребень, обрамляющий рострум (rostrum), и желобок тянутся до или слегка заходят за эпигастральный зубчик (epigastric tooth)
10	У взрослых самцов длина пальца третьей ногочелюсти (maxilliped) примерно равна половине (от 0,5 до 0,6) длины предпоследнего членика ноги (propodus)
11	5-я грудная нога (pereopod) без экзоподитов (exopod) и тельсон (telson) без неподвижных субапикальных шипиков
12	Тело бело-желтое, желто-красное с черными или зелеными точками
13	Рострум (rostrum) с 6-9 дорзальными и 2-3 вентральными зубчиками
14	Подвижные пальцы клешни (chela) с очень короткими и тонкими шипиками
15	5-е грудные ноги (pereopod) без экзоподитов (exopod)

**Question 3.2** Заполните матрицу в Листе Ответов. Наличие признака обозначайте знаком «1», а его отсутствие знаком « – » **(22,5 балла)**,

### Реконструкция филогенетических связей при помощи UPGMA

**UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)** считается самым простым методом реконструкции филогенетических деревьев при условии постоянной скорости эволюции. В этом методе пара кластеров с самым коротким расстоянием объединяется в кластер более высокого уровня при каждой итерации. Для иллюстрации этой концепции, рассмотрим количество различий в признаках между таксонами A, B, C и D.

	<b>A</b>			
<b>A</b>	0			
<b>B</b>	6	0		
<b>C</b>	7	8	0	<b>D</b>
<b>D</b>	8	9	4	0

**Итерация 1:** Пара кластеров с наименьшим расстоянием – это пара C и D, которая объединяется в кластер более высокого уровня (C,D). **Относительный возраст** новообразованного кластера рассчитывается как половина расстояния между двумя исходными кластерами. В данном случае относительный возраст нового кластера равен 2.

Затем создаётся новая матрица всех расстояний путем расчета расстояний между кластерами как среднего расстояния между всеми таксонами одного кластера и всеми таксонами другого кластера. Например, расстояние между кластером A и кластером (C,D), рассчитывается как среднее между  $d(A,C)$  и  $d(A,D)$ , где  $d(x,y)$  это обозначение расстояния между кластерами x и y.

	<b>A</b>		
<b>A</b>	0		
<b>B</b>	6	0	<b>(C,D)</b>
<b>(C,D)</b>	7,5	8,5	0

**Итерация 2:** Теперь пара кластеров с наименьшим расстоянием - это пара A и B, которая объединяется в кластер более высокого уровня (A,B) с относительным возрастом 3.

Опять создаётся новая матрица путём подсчёта всех расстояний, как описывалось выше. Расстояние  $d((A,B),(C,D))$  определяется как среднее между  $d(A,C)$ ,  $d(A,D)$ ,  $d(B,C)$  и  $d(B,D)$ .

	<b>(A,B)</b>	
<b>(A,B)</b>	0	<b>(C,D)</b>
<b>(C,D)</b>	8	0

**Итерация 3:** При последней итерации два оставшихся таксона (кластера) объединяются в новый кластер ((A,B),(C,D)) и относительный возраст этого кластера составляет 4.

**Question 3.3** Создайте матрицу расстояний на основании матрицы признаков, представленной в Таблице 2. Расстояние между двумя видами определяется как число признаков, по состоянию которых эти два вида отличаются друг от друга (у одного вида признак отсутствует, а у другого присутствует) **(7,5 баллов)**,

Таблица 2.

Признак	I	II	III	IV	V	VI
1	-	-	-	1	-	-
2	-	-	-	-	1	-
3	-	-	-	1	-	-
4	-	-	1	-	-	1
5	-	-	-	1	-	-
6	1	-	1	-	1	1
7	1	-	1	-	1	1
8	1	-	1	-	-	1
9	-	1	-	-	-	-
10	-	-	1	-	-	1
11	-	1	-	-	-	-
12	1	-	-	-	1	-
13	-	-	-	1	-	-
14	-	-	-	1	-	-
15	-	1	-	-	1	-
16	1	1	1	-	1	1
17	-	1	1	1	-	1
18	1	-	1	1	1	1
19	-	1	-	-	-	-
20	1	-	-	-	1	-

**Question 3.4** Определите в этом задании филогенетические связи между шестью образцами (I – VI), признаки которых даны в Таблице 2, при помощи метода UPGMA на основании матрицы расстояний, которую вы создали в предыдущем вопросе (**Question 3.3**). Убедитесь, что вы правильно использовали обозначения кластеров от I до VI в соответствии с обозначениями образцов. (**12 баллов**).

**Question 3.5** На основе результатов UPGMA нарисуйте филогенетическое древо (дендрограмму). Укажите относительную длину каждой ветви, написав число рядом с ней (**5 баллов**).