

27-я Международная Биологическая Олимпиада

17-23 июля 2016

Ханой, Вьетнам



Практический тест 1

АНАТОМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Общее количество баллов: 91

Продолжительность: 90 минут

ДОРОГИЕ УЧАСТНИКИ!

Этот практический тест состоит из трех частей:

ЧАСТЬ 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИГМЕНТОВ ЛИСТА (30 баллов)

Задание 1. Количественное определение содержания пигментов при помощи спектрофотометра

Задание 2. Качественное определение пигментов при помощи тонкослойной хроматографии (TLC)

ЧАСТЬ 2. АНАТОМИЯ РАСТЕНИЙ (31 балл)

Задание 3. Изучение анатомических признаков четырех образцов

Задание 4. Построение матрицы данных и определение положения каждого образца на представленном филогенетическом дереве

Задание 5. Рисунок тонкой структуры сосудистого пучка среза

ЧАСТЬ 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВ РАСТЕНИЙ И ПОСТРОЕНИЕ МАТРИЦЫ ДАННЫХ (30 баллов)

Задание 6. Определите морфологических и анатомических признаков пяти данных образцов растений

Задание 7: Определение образцов PG-ПК с использованием дихотомического ключа

Задание 8. Построение матрицы данных

- A. Не забудьте вписать название **вашей страны** и ваш **код студента** в соответствующую клетку на первой странице **листа ответов**
- B. Ответы необходимо вносить только в **ЛИСТ ОТВЕТОВ**, а не в **ЗАДАНИЯ**. Ответы, внесенные в **ЗАДАНИЯ**, оцениваться **НЕ БУДУТ**.
- C. Пожалуйста, убедитесь, что вам предоставлены все материалы и оборудование, перечисленные в списке для каждого задания. Если что-либо отсутствует или повреждено, поднимите **КРАСНУЮ** карточку не **позднее 10-и минут** от начала практического теста.
- D. Старайтесь выполнять работу без ошибок. Пролитые жидкости или испорченное оборудование дополнительно предоставляться не будут.
- E. Прекратите отвечать на вопросы и отложите ручку немедленно после звонка. После окончания теста вложите **ЛИСТ ОТВЕТОВ, ЗАДАНИЯ** и **РАСПЕЧАТАННЫЕ ДАННЫЕ** в предоставленный конверт.
- F. Выносить из лаборатории задания (бумагу), материалы и оборудование не разрешается.
- G. Не забудьте получить распечатки измерений спектрофотометра в Задании 1, которые будут необходимы вам для ответов на последующие вопросы.

ВНИМАНИЕ: Предоставленные вам для проведения эксперимента материалы хрупкие и острые. Обращайтесь с ними очень осторожно. Постарайтесь избежать их контакта с вашей кожей или одеждой. Для защиты глаз от брызг используйте очки.

Удачи!!!

МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ 3 ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Эксперимент 1. Анализ пигментов листа

Название	Количество
Образцы листьев сои (образец А и образец В)	2 пробирки для микроцентрифуги
Позитивный контроль	1 пробирка для микроцентрифуги
Пластинка TLC (пластинка для тонкослойной хроматографии) с кодом студента	1 штука в маленьком пластиковом пакете (пакет не выбрасывать)
Кюветы	2 штуки
95% этанол	40 мл в пробирке Falcon
Этанол для промывания пипетки	20 мл в пробирке Falcon
Смесь растворителей для растворителей (n-гексан : ацетон = 7:3 по объему)	25 мл в TLC камере (стеклянная банка с притёртой крышкой)
Ступки и пестики	по 2 штуки
Штатив для пробирок Falcon	2 штуки
Воронки	2 штуки
Пинцет	1 штука
Стеклянная пипетка 1 мл	2 штуки
Стеклянная пипетка 5 мл	1 штука
Резиновая груша	1 штука
Пробирка для микроцентрифуги 1,5 мл	2 штуки
Штатив для микроцентрифужных пробирок	1 штука
Пробирка Falcon 15 мл	4 штуки
Штатив для кювет	1 штука
Капилляры (лежат в пробирке Falcon)	2 штуки
Калькулятор	1 штука
Миллиметровая бумага для подсчетов	1 набор
Перчатки	3 пары
Бумажные полотенца	5 штук
Карандаш и точилка	по 1 штуке
Линейка	1 штука
Маркер	1 штука
Защитная маска	1 штука
Защитные очки	1 штука
Контейнер (большая стеклянная банка) для отходов	1 штука

Эксперимент 2. Анатомия растений

Название	Количество
Стебли 4-ёх различных видов растений в чашках Петри, обозначенные SC, SD, SE и SF. Каждый вид представлен двумя образцами.	8 штук
Микроскоп	1 штука
Препаровальная игла	1 штука
Предметное стекло	10 штук
Покровное стекло	10 штук
Фильтровальная бумага	20 штук
Лезвие	2 штуки
12% обесцвечивающий раствор (bleach solution)	20 мл во флаконе
3% раствор HCl	20 мл во флаконе
7.5% раствор кармина	20 мл во флаконе
1.5% раствор метилового зеленого	20 мл во флаконе
Дистиллированная вода	20 мл во флаконе
Секундомер	1 штука
Маркер	1 штука
Тонкий срез моркови (служит для приготовления срезов)	1 штука

Эксперимент 3. Определение видов рамтений и создание матрицы данных

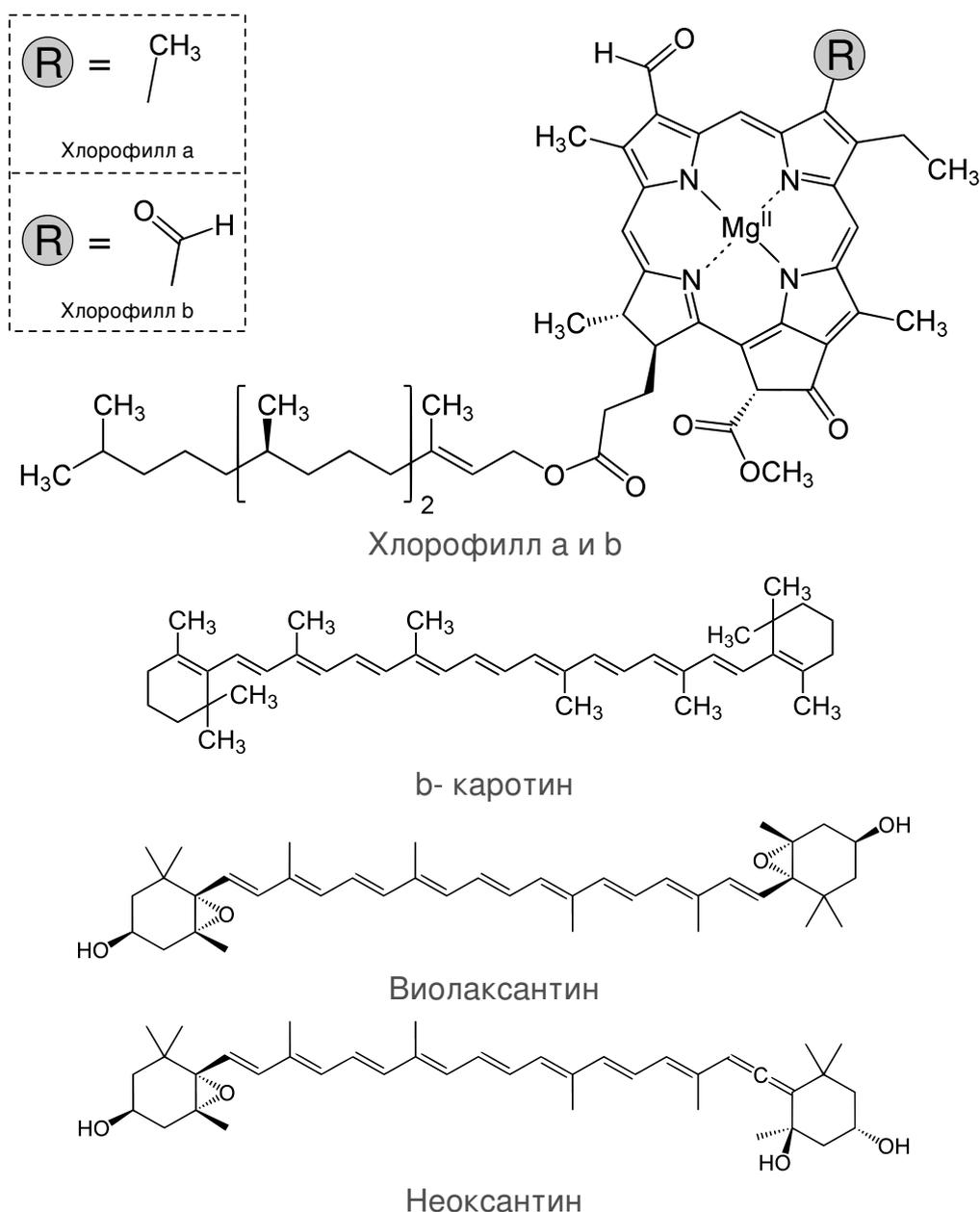
Название	Количество
Образцы 5-и видов цветков в 70% этаноле, обозначенных PG, PH, PI, PJ, PK. Каждый вид представлен 2 образцами	5 пробирок
Микроскоп	1 штука
Срез моркови (служит подложкой для приготовления срезов)	1 штука
Лупа	1 штука
Препаровальная игла с уплощённым концом	1 штука
Препаровальная игла	1 штука
Предметное стекло	5 штук
Покровное стекло	5 штук
Пинцет	1 штука
Лезвие	2 штуки
Фильтровальная бумага	5 штук
Защитная маска	1 штука
Маркер	1 штука
Дистиллированная вода	1 флакон

ЧАСТЬ I. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИГМЕНТОВ ЛИСТЬЕВ (30 БАЛЛОВ)

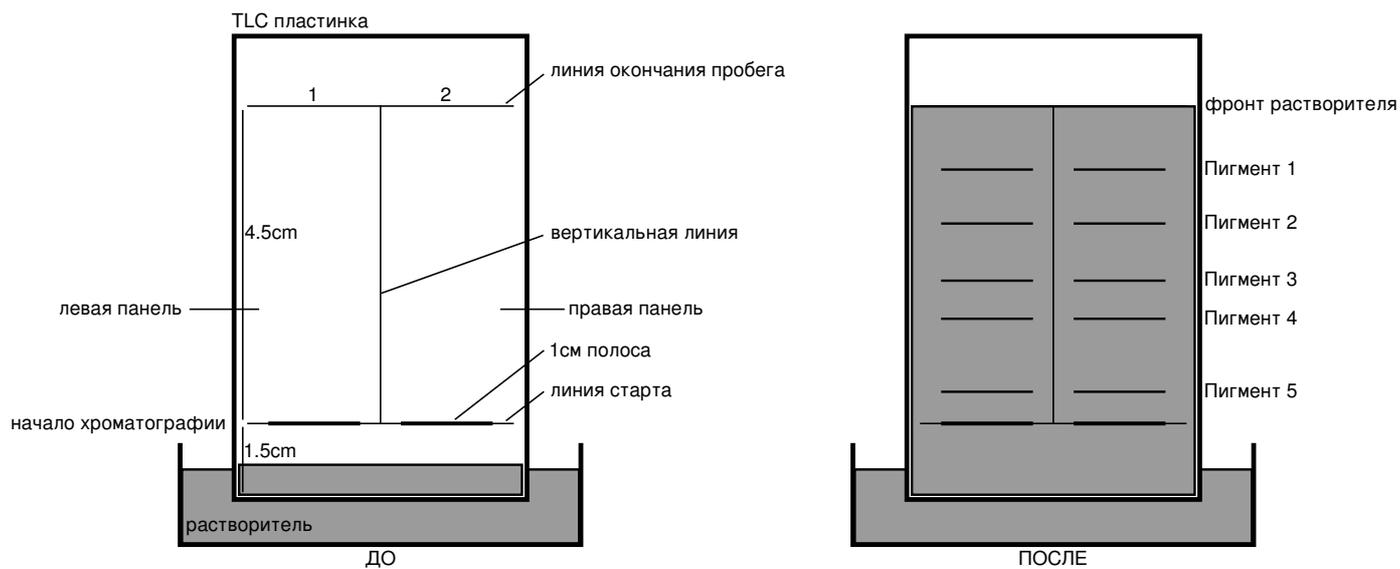
Введение

Приспособление к разной интенсивности света приводит к изменению определённых физиологических признаков. Листья, выросшие при ярком освещении (световые листья), отличаются по строению и составу пигментов от листьев, выросших в тени (теневые листья). Такое приспособление листьев можно обнаружить при помощи качественного и количественного определения их пигментов.

Тонкослойная хроматография (TLC) - это метод, который может использоваться для разделения и анализа различных пигментов в смеси. Такие пигменты листьев как хлорофилл а, хлорофилл b, каротины и ксантофиллы (виолаксантин, неоксантин) (формулы представлены ниже) можно сделать видимыми на пластинках TLC. Для определения количества каждого пигмента проводят измерения экстракта из листьев при помощи спектрофотометрии при разных длинах волн.



Для этого эксперимента у растений сои, которые выращивались либо на солнце, либо в тени, были собраны листья для качественного и количественного анализа пигментов листа.



Тонкослойная хроматография растительного экстракта



Спектрофотометр

Ход работы

1. Измельчите листья образцов А и В в разных ступках с использованием соответствующих пестиков в 2 мл 95% этанола. Добавьте к каждой смеси по 5 мл 95% этанола и продолжайте измельчать до получения однородной смеси. Отфильтруйте каждый образец (А и В) отдельно на своей воронке через бумажный фильтр. Соберите по 5 мл фильтрата А и фильтрата В в подписанные пробирки Falcon объемом 15 мл.
2. Перенесите по 0,5 мл каждого экстракта в новые подписанные пробирки Falcon объемом 15 мл.
3. Доведите объём каждого экстракта до 5 мл при помощи 95% этанола и осторожно перемешайте раствор.
4. Перенесите разведенные экстракты А и В в кюветы, подписанные соответственно А и В. Измерьте абсорбцию при 649 и 664 нм в каждой кювете А и В. (Приготовив кюветы для измерения, *поднимите вашу зеленую карточку. Ассистент возьмёт ваши образцы для измерений и предоставит вам результаты. Ожидая результаты измерения, приступайте к выполнению следующего этапа работы*).
5. При помощи линейки и карандаша проведите осторожно на расстоянии 1,5 см от нижнего конца пластинки TLC стартовую линию (см. выше рисунок Тонкослойная хроматография экстракта растений). Поставьте на расстоянии 4,5 см от линии старта отметку, обозначающую окончание пробега растворителя. Проведите осторожно по середине пластинки вертикальную линию, разделяющую пластинку TLC на две части: левую и правую. Отметьте осторожно на линии старта в центре каждой части участок длиной в 1 см, определяющий место внесения образца.
6. Внесите около 0,5 мл экстракта А (без разведения) в центрифужную пробирку объемом 1,5 мл. При помощи стеклянного капилляра нанесите экстракт А из центрифужной пробирки на линию старта в левой части. Дайте растворителю немного высохнуть и нанесите экстракт ещё 9 раз. Таким же образом в правой части пластинки нанесите 10 раз положительный контроль на линию старта.
7. Дайте пластинке высохнуть при комнатной температуре в течении 1 минуты. Затем поместите пластинку в камеру TLC, содержащую небольшое количество хроматографического растворителя и закройте крышку (пигментная зона на пластинке не должна контактировать с хроматографическим растворителем). Как только растворитель достигнет верхней отметки, немедленно выньте пластинку из камеры TLC. (*Поднимите вашу **ЗЕЛЕНУЮ карточку**, ассистент сфотографирует вашу пластинку TLC для оценки*). Фотография пластинки будет оцениваться в **6 баллов**.

Ответьте на следующие вопросы в Листе ответов

Q.1.1 (10 БАЛЛОВ)

Внесите величины абсорбции в таблицу в **Листе ответов**. Рассчитайте концентрацию хлорофилла а (Chl a), хлорофилла b (Chl b), суммарного хлорофилла (Total Chl) при помощи следующих формул (Lichtenthaler, 1987). Определите соотношение хлорофилла а к хлорофиллу b в экстрактах А и В (с точностью **до 2 знаков после запятой**).

$$\begin{aligned} \text{Chl a (mg/L)} &= - 5.19 * (A_{649}) + 13.36 * (A_{664}) \\ \text{Chl b (mg/L)} &= 27.43 * (A_{649}) - 8.12 * (A_{664}) \\ \text{Total Chl (mg/L)} &= 22.24 * (A_{649}) + 5.24 * (A_{664}) \end{aligned}$$

Q.1.2. (2 БАЛЛА)

Укажите в **Листе ответов** для каждого из следующих утверждений, является ли оно верным или неверным, используя знак ✓.

- A** Листья, из которых получен экстракт А, обычно толще листьев, из которых получен экстракт В
- B** Листья, из которых получен экстракт А, более чувствительны к фотоингибированию
- C** Экстракт А был получен из темных листьев
- D** У листьев, из которых получен экстракт А, световая точка компенсации ниже, чем у листьев, из которых получен экстракт В

Q.1.3. (6 БАЛЛОВ)

После получения фотографии вашей TLC пластинки поместите пластинку обратно в маленький пластиковый пакет, закройте его и прикрепите в вашем Листе ответов.

Q.1.4. (10 БАЛЛОВ)

Вычислите значения R_f по представленной ниже формуле и определите название каждого пигмента. **Расстояние, пройденное пигментом**, определяется от линии старта до горизонтального и вертикального центра пигментной полосы.

Расстояние, пройденное смесью растворителей, измеряется от линии старта до фронта растворителей.

$$R_f = \frac{\text{Расстояние, пройденное пигментом}}{\text{Расстояние, пройденное смесью растворителей}}$$

*нет линии = нет баллов

Q.1.5. (2 БАЛЛА)

Укажите в листе ответов для каждого из следующих утверждений, является ли оно верным или неверным, используя значок ✓.

- A** Различная величина R_f для хлорофилла а и хлорофилла b связана с их молекулярным весом.
- B** Значения R_f хлорофилла и b-каротина различаются, так как отличается их полярность.
- C** Скорость движения пигментов зависит, в основном, от взаимодействия с неподвижной фазой TLC пластинки.
- D** В проведенной хроматографии в качестве растворителя использовалась смесь n-гексана и ацетона. Эти два растворителя были использованы для увеличения растворимости различных пигментов.

ЧАСТЬ 2. АНАТОМИЯ РАСТЕНИЙ (31 БАЛЛ)

Наземные растения произошли от водорослей около 500 миллионов лет назад. После отделения от родственных им водорослей, у высших растений возникло много новых приспособлений, способствующих их выживанию и размножению в наземных условиях. У наземных растений стебель - один из наиболее важных органов, который поддерживает листья и репродуктивные органы, обеспечивая им механическую прочность и транспортировку воды, минеральных веществ и органических соединений. Эти функции выполняются проводящей системой, включающей ксилему и флоэму, которые присутствуют у определенных растений. Внутреннее строение (анатомию) стебля можно проанализировать на срезах растений под микроскопом.

В этом задании вы будете готовить поперечный срез стеблей четырех растений и наблюдать их анатомические особенности. Основываясь на характерных особенностях проводящей системы можно построить филогенетическое древо, отражающее эволюционное развитие проводящей системы и взаимоотношения между данными таксонами растений.

Ход работы

1. Приготовьте с помощью лезвия поперечный срез образцов, используя срезы морковки в качестве подложки. Сделайте поперечный срез как можно более тонким.
2. Поместите срез на предметное стекло. Добавьте несколько капель обесцвечивающего раствора для полного покрытия срезов и оставьте на 2 минуты. Удалите избыток обесцвечивающего раствора фильтровальной бумагой.
3. Нанесите на срезы несколько капель раствора HCl для полного покрытия срезов и оставьте на 30 секунд. После этого удалите избыток HCl фильтровальной бумагой.
4. Для промывания срезов нанесите на них несколько капель воды. После этого удалите избыток воды фильтровальной бумагой.
5. Для окраски срезов нанесите на них несколько капель раствора кармина и оставьте на 3 минуты. Удалите избыток кармина фильтровальной бумагой.
6. Нанесите на срезы несколько капель раствора метилового зеленого для полного покрытия срезов и оставьте на 30 секунд для окраски. После этого удалите избыток метилового зеленого фильтровальной бумагой.
7. Нанесите несколько капель воды на срезы, накройте покровным стеклом, удалите избыток воды фильтровальной бумагой и рассмотрите препараты под микроскопом.

Ответьте на следующие вопросы в Листе ответов:

Q.2.1. (8.0 БАЛЛОВ)

Какие из следующих тканей присутствуют в каждом образце растений?

Отметьте в **Листе ответов** знаком наличие и знаком отсутствие тканей в наблюдаемом препарате.

Q.2.2. (6.4 БАЛЛА)

Определите на срезах 4 анатомических признака стебля и их состояние (0: отсутствие или 1: наличие). Впишите 0 или 1 в матрицу данных в **Листе ответов** ниже. Данные для внешнего таксона (аутгруппы) SH уже внесены.

На основании полученной матрицы данных при помощи метода парсимонии было построено филогенетическое дерево (представлено на рисунке ниже) четырех исследуемых видов растений и одного известного вида (SH). Предполагается, что изначальное состояние признака (состояние 0) было таким же, что и у таксона SH.

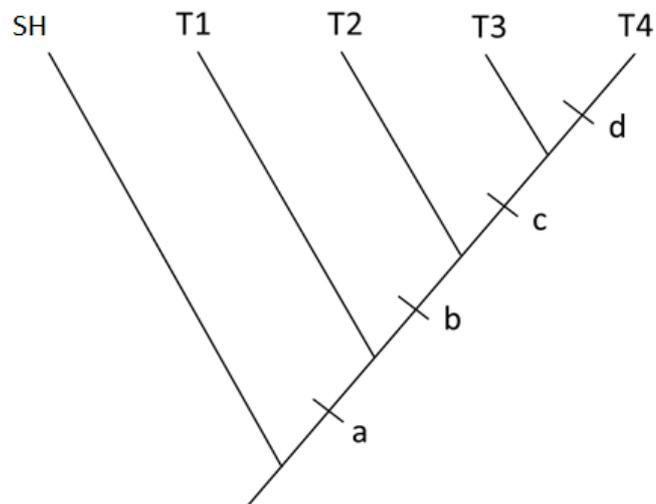


Рис. Филогенетическое дерево 5 видов
(Таксон: T)

Q.2.3. (8.0 БАЛЛОВ)

Используя результаты Q2.2., определите признак стебля (C1 - C4), соответствующий признаку (a - d) на филогенетическом дереве и определите положение каждого исследуемого вида растения (от SC до SF), соответствующего их таксонам на филогенетическом дереве (от T1 до T4).

- Впишите признаки стебля (C1 - C4), соответствующие признакам (a - d) на филогенетическом дереве:

Q.2.4. (6.0 БАЛЛОВ)

- Впишите названия видов растений (от SC до SF), соответствующие их таксонам (от T1 до T4) на филогенетического дерева:

Q.2.5. (1,0 БАЛЛ, ПО 0,25 БАЛЛА)

Используйте диаграмму одного сосудистого пучка в **Листе ответов** и обозначте в пустых ячейках цифрами: метаксилему (1), флоэму (2), протоксилему (3) и склеренхиму (4).

Q.2.6. (1.6 БАЛЛА)

Укажите в **Листе Ответов**, является каждое из следующих утверждений верным или неверным, используя значок ✓.

- A** Стебель растения SC не может проводить воду так эффективно, как стебли других исследуемых растений SD и SE
- B** Обилие склереид у растения SD обеспечивает твердость его стебля.
- C** Диаметр стебля у растения SE не увеличивается постоянно при развитии растения, так как склеренхима ограничивает развитие проводящих пучков.
- D** Кольца склеренхимы под эпидермисом упрочняют стебель растения SF.

ЧАСТЬ 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВ РАСТЕНИЙ И СОЗДАНИЕ МАТРИЦЫ ДАННЫХ (30 БАЛЛОВ)

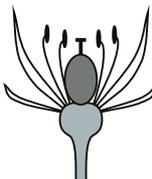
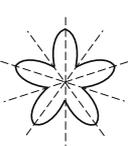
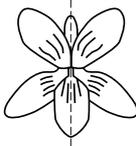
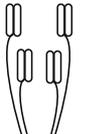
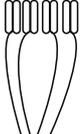
Введение

Несмотря на разнообразие строения цветка, он используется для определения видов растений.

В этом задании вам нужно определить морфологические и анатомические признаки пяти предоставленных образцов цветков (образцы PG-PK) и ответить на вопросы в **Листе Ответов**. На основе предоставленного дихотомического ключа для определения и используя выявленные морфологические и анатомические признаки, идентифицируйте образцы PG-PK в соответствии с названиями видов из дихотомического ключа. Создайте матрицу данных для данных образцов.

Для облегчения понимания терминологии используйте приведённые ниже рисунки:



 верхняя завязь	 нижняя завязь	
 радиально симметричный цветок	 асимметричный цветок	
 неравные тычиночные нити	 укороченные тычиночные нити	 равные тычиночные нити
 синкарпный гинецей	 апокарпный гинецей	

Ход работы

3.1. Симметрия цветка

- При помощи пинцета выньте каждый образец из пробирки Falcon на предметное стекло. Закройте пробирку, чтобы не испарялся этанол. Удалите избыток этанола фильтровальной бумагой.
- Будьте очень осторожны с предоставленными растительными образцами, так как они необходимы вам для всех наблюдений.

Q.3.1. (2.5 БАЛЛА)

Для каждого образца ометьте в таблице **Листа ответов** тип симметрии цветка (радиальный или асимметричный) знаком “✓”.

3.2. Признаки частей цветка и их количество

- При помощи препаровальных игл (простой и с расширенным концом), лезвия и лупы рассмотрите по очереди чашечку, венчик, андроцей и гинецей у всех предоставленных образцов.
- Рассмотрите внимательно все образцы и выполните задания Q.3.2 и Q.3.3.

Q.3.2. (4.5 БАЛЛА)

Определите для каждого образца количество свободных чашелистиков или долей (сросшихся чашелистиков) чашечки, сросшихся лепестков венчика, тычинок и запишите ответы (числа) в **Лист ответов**.

Q.3.3. (9.0 БАЛЛОВ, 0.3 ЗА КАЖДУЮ ЯЧЕЙКУ)

Определите признаки чашечки, венчика и тычиновых нитей, гинецея в каждом образце и обозначьте в **Листе Ответов** присутствие признака знаком √, а отсутствие - знаком х. ,

- Положите гинецей на срез моркови и приготовьте при помощи лезвия из двух цветков каждого образца PG, PI, PJ (данные для образцов PH, PK уже даны) срезы: из одного цветка как можно более тонкий поперечный, а из другого - продольный. Положите срез на предметное стекло, добавьте каплю воды и накройте покровным стеклом. Рассмотрите срезы под микроскопом.

Q.3.4. (3.0 БАЛЛА)

Определите число гнезд завязи и число семязачатков в гнезде для каждого образца и запишите числа в **Лист ответов**.

Определение вида растений

Дихотомический ключ к определению видов: строится на наличии или отсутствия признака. Внимательно прочитайте дихотомичный ключ, если вы не можете найти признак в линии А, пожалуйста, перейдите к линии В в том же номере.

1	Тычиночные нити одинаковые или укороченные	Переход к 2
	Тычиночные нити неравные	Переход к 6
2	Завязь более чем двугнездная	Вид ta
	Завязь двугнездная	Переход к 3
3	Число семязачатков на гнездо 1 .	Переход к 4
	Число семязачатков на гнездо более 1 .	Переход к 5
4	Венчик с волосками на абаксиальной стороне	Вид tb
	Венчик без волосков на абаксиальной стороне	Вид tc
5	Венчик с волосками на абаксиальной стороне. Синкарпный гинецей .	Вид td
	Венчик без волосков на абаксиальной стороне. Апокарпный гинецей .	Вид te
6	Венчик из 4-5 сросшихся лепестков (долей)	Переход к 7
	Венчик состоит из более чем 5 сросшихся лепестков (долей)	Вид tm
7	Число семязачатков на гнездо только 1	Переход к 8
	Число семязачатков на гнездо более, чем 1	Переход к 9
8	Венчик без волосков на абаксиальной стороне	Вид tf
	Венчик с волосками на абаксиальной стороне	Вид tg
9	Венчик с волосками на абаксиальной стороне. Завязь нижняя	Вид th
	Венчик без волосков на абаксиальной стороне; завязь верхняя .	Вид tk

Q.3.5. (6.0 БАЛЛОВ)

Определённые вами при помощи ключа названия видов (ta, tb, tc, td, te, tf, tg, th, tk, tm) впишите в таблицу в **Листе ответов** для каждого из образцов PG-ПК,

М3.4. Создание матрицы данных

Q.3.6. (5.0 БАЛЛОВ)

Внесите цифру, обозначающую состояние каждого признака, в матрицу данных в таблицу в **Листе ответов**.

Конец практического теста 1