

14 АПРЕЛЬ, 2022



Olympiad League

НАЦИОНАЛЬНАЯ ОЛИМПИАДА ПО БИОЛОГИИ НВО-4 2022

4-Этап Практика – Физиология и Анатомия Растений
Задания

OLYMPIAD LEAGUE

4 – Этап Практика по АНАТОМИИ И ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

Эксперимент 1

Цель работы: изучить анатомическое строение объекта в связи с выполняемыми фотосинтетическими функциями.

Оборудование и объекты исследования:

	Название материала
1	микроскоп
2	предметные и покровные стекла
3	лезвие
4	препаровальные иглы
5	пипетки
6	1% раствора флороглюцина
7	концентрированная соляная кислота (HCl)
8	фильтровальная бумага
9	кусочки пенопласта
10	стаканчик с водой
11	30% раствор КОН
12	раствор Люголя

Растительный объект представлен: А) листьями, фиксированными в 70%-м этаноле; Б) листьями, обесцвеченными кипячением в спирте.

Ход работы:

Положите предметное стекло на бумажное полотенце. Нанесите на предметное стекло каплю 30%-ного раствора КОН. Внимание! Пипетка не должна контактировать с кожей, со столом или другими растворами! Едкое вещество!

Сделайте поперечный срез листьев, обесцвеченных в спирте (Б), зажав его в кусочке пенопласта. Поместите срез в каплю раствора КОН на предметное стекло. Выдержите не менее 10 минут для частичного осветления объекта. Качество срезов контролируйте микроскопически. При необходимости переделайте срезы.

Промойте срез: уберите полоской фильтровальной бумаги раствор щелочи, добавьте несколько капель воды. Затем уберите лишнюю жидкость и окрасьте срез р-ром Люголя. Качество приготовления и окрашивания среза проконтролируйте с помощью микроскопа. Когда препарат будет готов, поднимите руку. Подойдет администратор и оценит качество приготовленного Вами среза.

Сделайте поперечный срез листьев, фиксированных в 70% спирте (А). Приготовьте временный микропрепарат в капле воды, соблюдая правильную методику приготовления среза и технику работы с микроскопом.

Проведите окрашивание среза флороглюцином. Добавьте к препарату каплю раствора флороглюцина, подождите около 2 минут. После этого добавьте каплю концентрированной соляной кислоты. Внимание! Пипетка не должна контактировать с кожей, со столом или другими растворами! Едкое вещество! Срочно закройте склянку пробкой – соляная кислота летуча!

Через 2–3 минуты проявится окрашивание. Уберите соляную кислоту фильтровальной бумагой и добавьте каплю воды. Качество приготовления среза проконтролируйте с помощью микроскопа. Когда препарат будет готов, поднимите руку. Подойдет администратор и оценит качество приготовленного Вами среза.

Сделайте комбинированный схематический рисунок среза объекта (пункт 7 в листе ответов). Для этого по препарату, окрашенному флороглюцином, сделайте прорисовку анатомических структур с указанием их названия. После этого сравните с микроскопической картиной на препарате, окрашенном раствором Люголя. Укажите в таблице ткани, которые окрасились в синий цвет раствором Люголя, и которые прокрасились раствором флороглюцина. Также отметьте не окрасившиеся ткани.

Сделайте выводы и ответьте на вопросы в листе ответов.

4 – Этап Практика по АНАТОМИИ И ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

Эксперимент 2

Цель: изучить пигментный состав зеленого листа и показать их роль в световой фазе фотосинтеза.

	Название материала
1	полоска фильтровальной бумаги
2	высокий сосуд (стакан или банка) плотно закрытый крышкой, с ниткой, приклеенной поперек горлышка
3	растворитель (на дне сосуда)
4	линейка
5	простой карандаш
6	тонкий капилляр или иные приспособления для нанесения вытяжки пигментов
7	готовая спиртовая вытяжка пигментов листа

Ход работы:

Задание I

А) Полоску фильтровальной бумаги шириной 2–3 см и длиной, соответствующей длине стакана, положите на чистую поверхность и карандашом на бумаге без сильного нажима прочертите горизонтальную линию старта на расстоянии 2 см от края снизу.

Б) Из ранее приготовленной спиртовой вытяжки пигментов возьмите капилляром (или другим приспособлением) небольшую порцию экстракта и перенесите ее на линию старта на фильтровальной бумаге. Бумагу подсушите на воздухе, повторно нанесите вытяжку пигментов на линию старта еще 5–6 раз, чтобы сконцентрировать пигменты. В итоге у Вас должна получиться тонкая полоса зелёного экстракта.

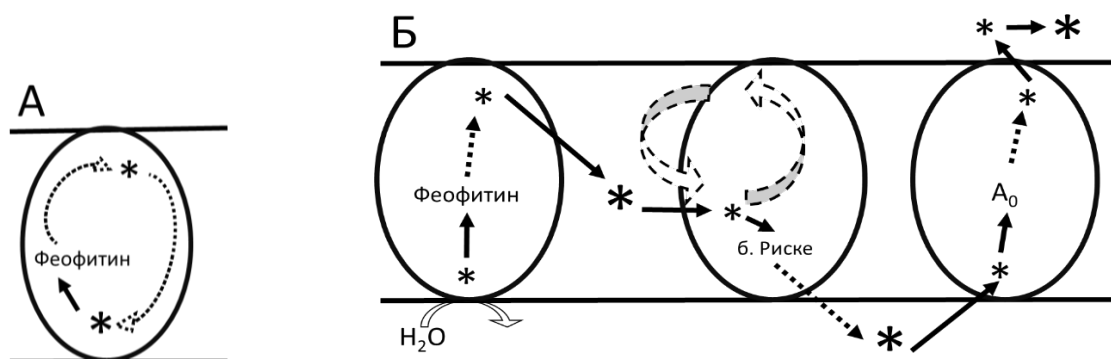
В) Фильтровальную бумагу с нанесенными пигментами согните поперек в верхней части. Поставьте бумагу прижимая к стенке колбы, таким образом чтобы стартовая линия бумаги касался растворителя, но полоса экстракта оказалась выше его уровня. Плотнo закройте пробкой или крышкой. Внимание! Открывать надолго банку с растворителем нельзя! Выдерживайте до полной разгонки пигментов.

Г) По окончании разделения пигментов достаньте из сосуда фильтровальную бумагу с пятнами пигментов. Тут же закройте его крышкой. Простым карандашом обведите линию фронта (границу, до которой поднялся растворитель), а также границы пятен пигментов. Обозначьте пигментные пятна цифрами (в порядке от фронта к старту). После подсушивания бумаги позовите администратор. Он прикрепит ее степлером к листу ответа.

Д) Линейкой измерьте расстояния, пройденные растворителем и пятнами пигментов. Рассчитайте для каждого из пигментов значение R_f (индекс относительной подвижности пигмента). Оформите результаты, заполнив таблицу №1 «Пигменты листа». Ответьте на вопрос: *Какие пигменты теоретически должны присутствовать в спиртовой вытяжке зеленого листа?*

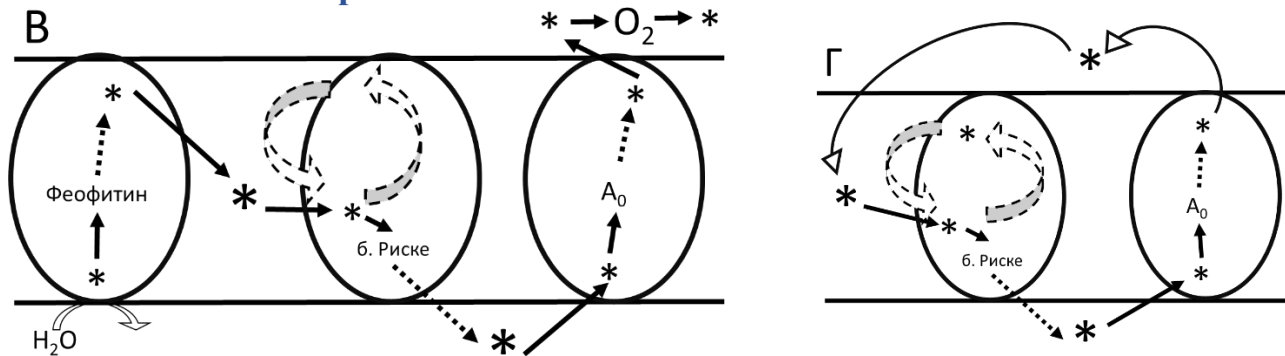
Задание II

II А) Электрон-транспортная цепь – важнейший этап фотосинтеза. Есть несколько вариантов электронного транспорта по цепи. Перед Вами – упрощённые схемы 4 из них. Соотнесите название электронного транспорта с его схемой. **Ответ в виде шифра занесите в таблицу №2.**



См. продолжение на обороте

4 – Этап Практика по АНАТОМИИ И ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ



Тип электронного транспорта:

I – псевдоциклический; II – циклический для ФСII; III – нециклический; IV – циклический для ФСI.

II Б) Внимательно рассмотрите схемы Б и Г. Для этих типов электронного транспорта впишите в таблицу №3 их названия, а также укажите наличие или отсутствие (+ или – соответственно) процессов, сопутствующих определённому типу транспорта. Заполняя таблицу, примите, что идёт только данный вид электронного транспорта.

Задание III

Студенты кафедры физиологии растений КАИСТ в ходе малого практикума по фотосинтезу выделили из листьев *Pisum sativum* суспензию хлоропластов. Для изучения скорости электронного транспорта к суспензии добавляли искусственный акцептор электронов – феррицианид калия [гексацианоферрат(III) калия, $K_3Fe(CN)_6$], который эффективно проникал внутрь выделенных хлоропластов и принимал электроны от ферредоксина. При этом феррицианид, поглощающий в синей части спектра (длина волны – около 400 нм), восстанавливался до ферроцианида [гексацианоферрат(II) калия, $K_4Fe(CN)_6$], при этом поглощение в области 400 нм снижается. Студенты опробовали несколько вариантов эксперимента: Проба №1. Освещение яркой лампой в течение 10 минут без добавления АДФ; Проба №2. Добавление АДФ и освещение яркой лампой в течение 10 минут; Проба №3. Инкубация в темноте в течение 10 минут без добавления АДФ.

В конце каждого периода инкубации процесс останавливали, добавляя трихлоруксусную кислоту и ацетат натрия, после чего пробы фильтровали и определяли их оптическую плотность при 400 нм на спектрофотометре.

А). Расположите пробы №1, 2 и 3 в порядке возрастания оптической плотности.

Б). Влияет ли добавление АДФ на скорость электронного транспорта? Ответ аргументируйте.

В). 2,4-динитрофенол – вещество, работающее в живых клетках как протонный ионофор, т.е. он переносит ионы водорода через биологические мембраны по градиенту концентрации. К суспензии хлоропластов добавили феррицианид калия [$K_3Fe(CN)_6$] и 2,4-динитрофенол в действующей концентрации, затем инкубировали 10 минут на свету (проба №4), после чего остановили реакцию, как было описано выше, отфильтровали пробу и определили оптическую плотность при 400 нм, сравнив с вариантом 2 (проба №2) из предыдущего эксперимента. В каком варианте оптическая плотность пробы при 400 нм уменьшилась больше всего? В листе ответов укажите номер пробы.

Г). К суспензии хлоропластов добавили олигомицин А – ингибитор АТФ-синтазы, блокирующий как транспорт протонов через неё, так и синтез АТФ. Какие изменения в работе ЭТЦ фотосинтеза можно наблюдать при этом? В таблице отметьте верные и неверные ответы.

- 1) Снижение выделения активных форм кислорода (АФК);
- 2) Усиление выделения АФК;
- 3) Повышение рН люмена;
- 4) Снижение рН люмена;
- 5) Повышение содержания зеаксантина;
- 6) Повышение содержания виолаксантина;
- 7) Повышение скорости электронного транспорта;
- 8) Снижение скорости электронного транспорта.