

Фамилия _____
Имя _____
Регион _____
Шифр _____

Шифр _____
Рабочее место № _____
Итого баллов _____

ЗАДАНИЯ
практического тура заключительного этапа
XXIX Всероссийской олимпиады школьников по биологии 2013 г.
г. Оренбург. 11 класс

АНАТОМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Цель: изучить строение и функционирование устьичного аппарата высших растений.

Оборудование и объекты исследования: микроскоп, предметные и покровные стекла, лезвие, препаровальная игла, фильтровальная бумага, салфетка, пинцет, стаканчик с водой, пипетка, листовые пластинки исследуемых растений (объект № 1, объект №2, объект №3) в чашке Петри, 5% р-р глицерина, 20%р-р глицерина, бесцветный лак.

Ход работы:

1. Приготовьте временный микропрепарат эпидермы листовой пластинки (объект №1), соблюдая правильную методику приготовления препарата и технику работы с микроскопом. Найдите открытое устье и представьте его проверяющему.

Замените воду на 5% р-р глицерина. Зарисуйте микроскопическую картину до (рис. 1) и после обработки клеток эпидермы 5% р-ром глицерина (рис. 2). Объясните наблюдаемые изменения. (4 балла)

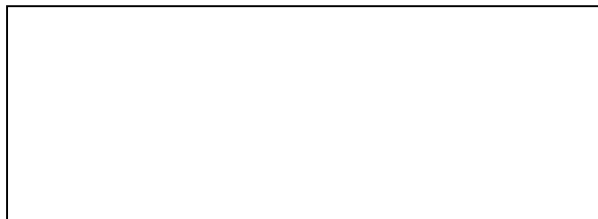
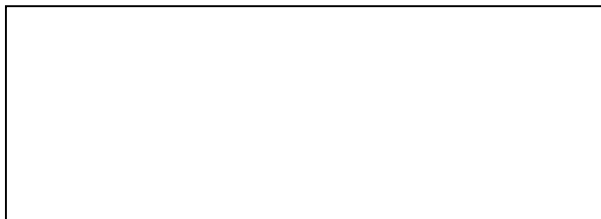


Рис. 1. До обработки
Объяснение результатов _____

Рис.2. После обработки р-ром глицерина

2. Возьмите объект №2 и разрежьте лезвием лист на две равные части. На одну часть нанесите бесцветный лак с нижней стороны листа, подождите 6-8 минут, пока он высохнет. Вторую половину листа погрузите в 20% р-р глицерина на 20 минут. Затем тщательно обсушите фильтровальной бумагой. Нанесите на нижнюю сторону объекта лак, как и в предыдущем варианте. С помощью пинцета осторожно снимите отпечатки и рассмотрите их под микроскопом. На выборке из 30-ти устьиц подсчитайте долю открытых. Результаты занесите в таблицу. Объясните результаты опыта. (3,5 балла)

№	Вариант	Число открытых устьиц	Число закрытых устьиц	Доля открытых устьиц (%)
1	без обработки			
2	после экспонирования в 20% р-ре глицерина			

Объяснение результатов _____

3. В таблице перечислите внешние и внутренние факторы, влияющие на открывание и закрывание устьиц. **(6 баллов)**

№	Действующий фактор	Условия для открывания устьиц	Условия для закрывания устьиц
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			

4. С целью изучения структуры устьичного аппарата с объекта №3 при помощи лака сделайте отпечатки (реплики) эпидермиса. Технику выполнения см. в Задании 2. Сделайте рисунок устьичного аппарата объекта №3, а также объекта №2, изученного ранее (Задание 2). На рисунке обозначьте основные клетки эпидермы, околоустьичные клетки и замыкающие клетки. **(6,5 баллов)**



Рис. Объект №2

Рис. Объект №3

Определите и обоснуйте тип устьичного аппарата у каждого из изученных объектов (№№1, 2, 3). Результаты занесите в таблицу.

№ объекта	Тип устьичного аппарата	Обоснование
1.		
2.		
3.		

Критерий

1. Качество препарата – 1 балл

Наблюдения – 1 балл

Обоснование – 2 балла

2. Качество реплики – 1,5 балла

Правильность оформления – 1 балл

Обоснование – 1 балл

3. За каждый правильно указанный фактор (6) – по 1 (сумма – 6 баллов)

4. Качество реплики – 1,5 балл

Качество рисунков и правильность обозначений – 2 баллов

Правильность определения типа устьичного аппарата – 1 балл

Обоснование ответа – 2 баллов

Фамилия _____
 Имя _____
 Регион _____
 Шифр _____

Шифр _____
 Рабочее место: _____
 Итого: _____

ЗАДАНИЯ
практического тура заключительного этапа XXIX Всероссийской
олимпиады школьников по биологии. 2012-2013 уч. год. 11 класс

БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Задание 1. Изучение регуляции экспрессии генов. (14 баллов)
 (Рекомендуемое время – 30 минут)

Оборудование, реактивы и материалы:

1. Шесть пронумерованных проб, содержащих экстракты семенников *Drosophila melanogaster*;
2. Автоматическая пипетка 100-1000 мкл;
3. Наконечники для автоматической пипетки;
5. Раствор эйконогена;
6. Раствор молибдата аммония, 2,5%;
7. Серная кислота, 5 н;
8. Раствор глюкозо-6-фосфата, 1 мМ;
9. Вода.
10. Стандартный ряд фосфата: 0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 и 1 мкмоль Ф в пробе.

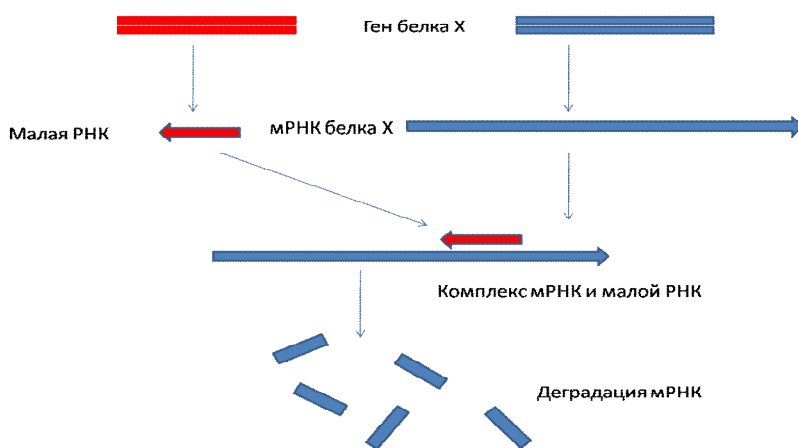


Рис. 1. Участие малых РНК в регуляции экспрессии генов

Теоретическое введение:

Малые регуляторные РНК широко распространены среди эукариот, обеспечивая у них посттранскрипционную регуляцию экспрессии генов. РНК-интерференция основана на том, что малая регуляторная РНК связывается с комплементарным ей участком мРНК, формируя двуцепочечную структуру. Этот гибрид распознается эндонуклеазными системами клетки, что приводит к избирательной дегградации мРНК (рис. 1).

Задание 1.1. Влияние мутаций на фертильность самцов. (2 балла)

У *Drosophila melanogaster* малые РНК участвуют в подавлении экспрессии ряда белков в клетках зародышевой линии (в том числе, в оогониях и сперматоцитах). Ген *Stellate* расположен в X-хромосоме; его экспрессия в семенниках определяет мужскую стерильность. В то же время, в Y-хромосоме закодированы малые РНК (*Su(Ste)*), подавляющие экспрессию *Stellate* путем РНК-интерференции. Заполните Таблицу 1, отметив знаком X стерилен или фертилен самец, имеющий соответствующий генотип.

Таблица 1

Самец	Ген <i>Stellate</i>	Ген <i>Su(Ste)</i>	Плодовитость	
			Фертилен	Стерилен
1	Дикий тип	Дикий тип		
2	Дикий тип	Нефункционален		
3	Нефункционален	Дикий тип		
4	Нефункционален	Нефункционален		

Задание 1.2. Регуляция экспрессии рекомбинантной щелочной фосфатазы в семенниках дрозофилы. (9 баллов)

Щелочная фосфатаза – фермент, катализирующий гидролиз глюкозо-6-фосфата до глюкозы и неорганического фосфата. Об активности фермента можно судить по накоплению неорганического фосфата в среде после добавления субстрата.

Были получены линии *Drosophila melanogaster*, X-хромосома которых содержит ген щелочной фосфатазы, причем, мРНК белка может нести участок, комплементарный Su(Ste) РНК. В зависимости от генотипа самца, в его семенниках может подавляться экспрессия рекомбинантной щелочной фосфатазы.

Были получены экстракты семенников мух из трех линий (1 – 3, соответствуют номерам на пробирках, в пробирки внесено по 1 мл экстракта). Определите в этих экстрактах активность щелочной фосфатазы. Для этого внесите в пробирки 1, 2 и 3 по 1 мл раствора глюкозо-6-фосфата (Гл-6-Ф), согласно Таблице 2. (Субстрат вносите в каждую пробирку с интервалом в 15-30 секунд, чтобы ровно через 5 минут остановить реакцию добавлением серной кислоты!). В контрольные пробирки (1К – 3К) внесите по 1 мл воды и по 200 мкл серной кислоты. После 5-минутной инкубации остановите реакцию в опытных пробах добавлением 200 мкл серной кислоты. Во все пробирки внесите по 200 мкл раствора молибдата аммония и по 100 мкл раствора эйконогена. Количество фосфата в пробах определите, сравнивая их со стандартным рядом (через 5-10 мин развития окраски). Рассчитайте активность щелочной фосфатазы в экстрактах (мкмоль/мин на 1 мг белка). Концентрация белка в экстрактах 1, 2 и 3 составляет 0,01, 0,02 и 0,015 мг/мл соответственно.

Таблица 2

№	H ₂ O	Гл-6-Ф	Количество фосфата в пробе, мкмоль	Активность щелочной фосфатазы
1К	1 мл	-		
1	-	1 мл		
2К	1 мл	-		
2	-	1 мл		
3К	1 мл	-		
3	-	1 мл		

Задание 1.3. Анализ генотипов самцов *Drosophila melanogaster*. (3 балла)

Ниже представлена карта гена рекомбинантной щелочной фосфатазы. Также указаны сайты рестрикции для рестриктаз HindIII и EcoRI. Если ген содержит участок, комплементарный транскрипту Su(Ste), то появляется сайт рестрикции для EcoRI.

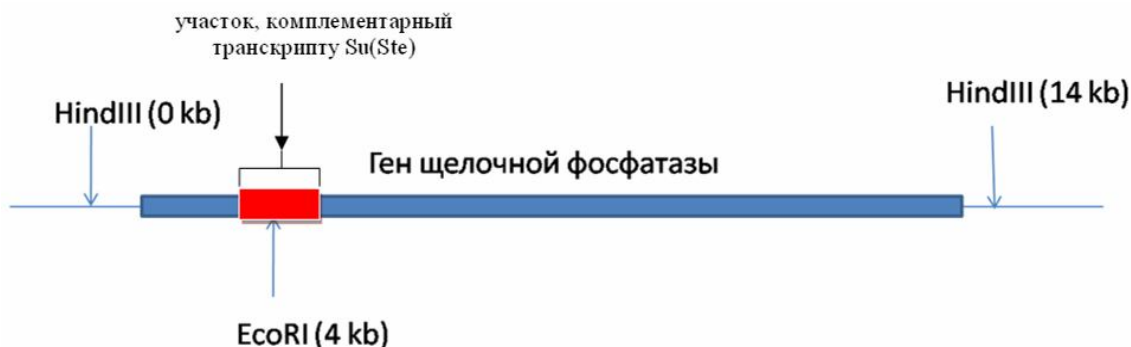


Рис. 2. Карта гена щелочной фосфатазы.

Указанны сайты рестрикции, а также расстояние между ними (1 kb = 1000 пар оснований).

Из мух трех исследуемых Вами линий была выделена ДНК. Ее инкубировали в присутствии рестриктаз HindIII и EcoRI, после чего провели электрофорез в агарозном геле, перенесли ДНК на нитроцеллюлозную мембрану и провели Саузерн-блот-гибридизацию для выявления ДНК гена щелочной фосфатазы. Ниже представлен автоштраф мембраны после гибридизации:

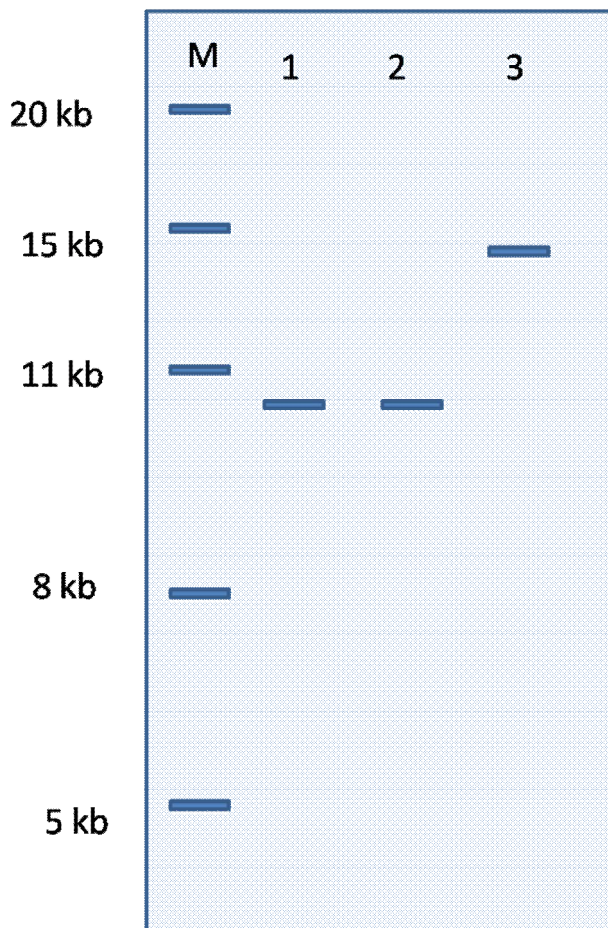


Рис. 3. Рисунок агарозного геля после проведения электрофоретического разделения продуктов рестрикции

На основании данных гибридизации и проведенного Вами опыта, заполните таблицу 3.

Таблица 3

Линия мух	Ген щелочной фосфатазы		ген Su(Ste)		
	есть сайт для EcoRI	Нет сайта для EcoRI	нормальный	дефектный	нельзя заключить по результатам опыта
1					
2					
3					

Задание 2. Изучение обмена РНК-хеликаз между внутриклеточными компартментами. (6 баллов) (Рекомендуемое время – 15 минут)

Оборудование:

1. Калькулятор;
2. Линейка;

РНК-хеликазы – ферменты, взаимодействующие с двуцепочечной РНК и изменяющие ее конформацию. Vasa – РНК-хеликаза, участвующая в РНК-интерференции в семенниках дрозофилы. Фермент локализован в цитозоле сперматоцитов, но значительная его часть иммобилизована около ядра в супрамолекулярном комплексе piNG-body, настолько большом, что его можно различить в световой микроскоп. Для исследования локализации Vasa была получена линия мух, экспрессирующая рекомбинантный белок Vasa-GFP, полученный слиянием последовательностей хеликазы Vasa и зеленого флуоресцирующего белка (GFP). Локализация Vasa-GFP в клетке показана на рисунке 4.

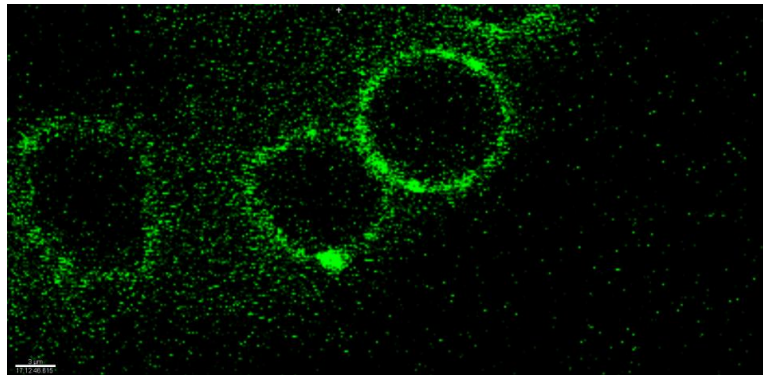


Рис 4. Локализация Vasa-GFP в сперматозоидах *Drosophila melanogaster*

Обмен белка между цитозолем и piNG-body изучали методом FRAP. Лазерным пучком Vasa-GFP «выжигался» в области piNG-body. Через некоторое время флуоресценция начинала восстанавливаться. Перед вами график зависимости флуоресценции в исследуемой области от времени.

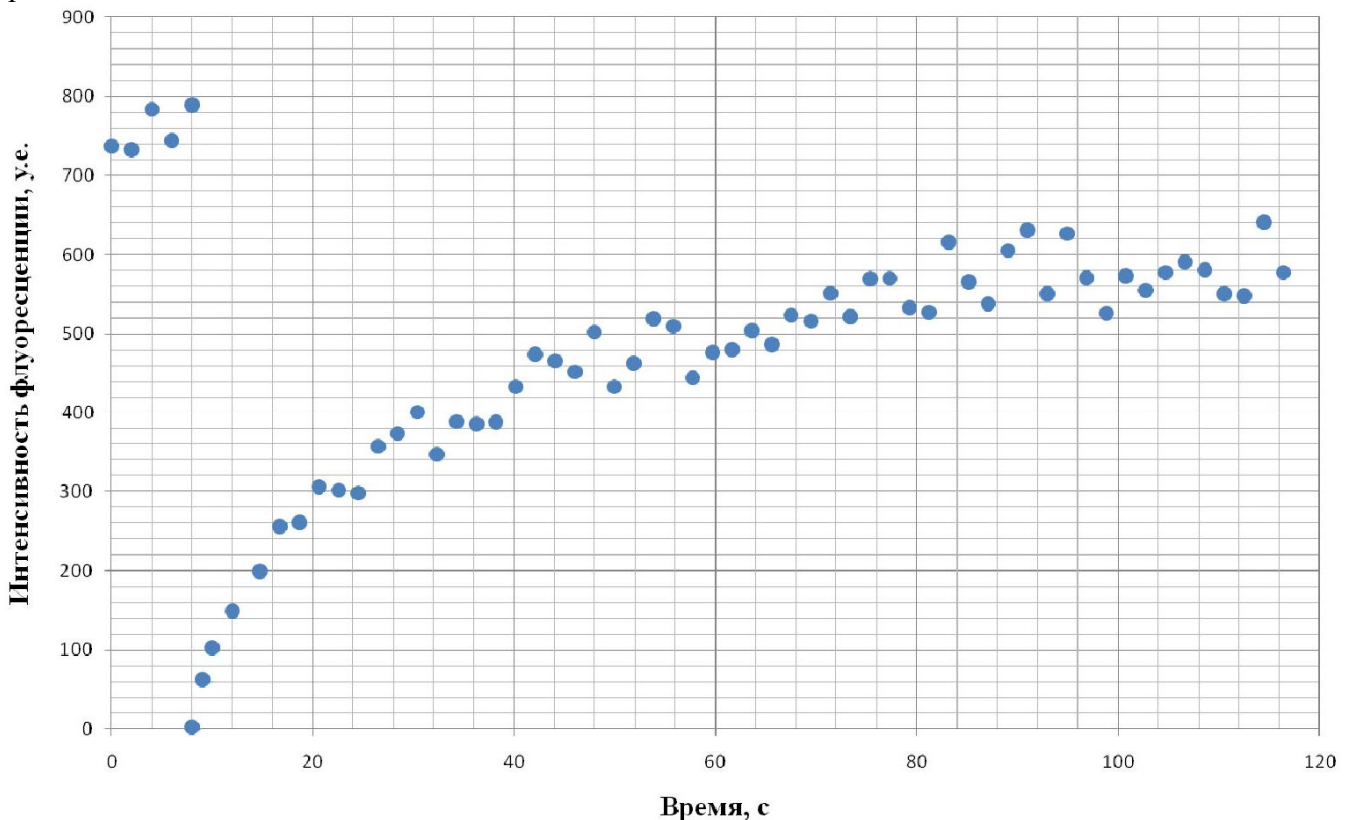


Рис 5. FRAP-анализ обмена Vasa-GFP в составе piNG-body

2.1. Определите, какая доля от общего количества Vasa-GFP иммобилизована в piNG-body (в %).

Ответ: _____ (2 балла)

2.2. Определите время (в секундах), за которое заменяется половина подвижной фракции белка.

Ответ: _____ (2 балла)

2.3. Какое уравнение лучше всего описывает процесс восстановления интенсивности флуоресценции после фотовыжигания?

- А) $I=kt+I_0$ Б) $I=kt/(I_0+t)$ В) $I=I_0(1-e^{-kt})$ Г) $I=I_0 \ln(kt)$

Ответ: _____ (1 балл)

2.4. Фотография на рисунке 4 была получена при помощи:

- А) Просвечивающей электронной микроскопии Б) Сканирующей электронной микроскопии
В) Интерференционной микроскопии Г) Конфокальной микроскопии

Ответ: _____ (1 балл)

Желаем удачи!

ЗАДАНИЯ

**практического тура XXIX Всероссийской олимпиады школьников
по биологии. Оренбург – 2013 год. 11 класс**

ЛАБОРАТОРИЯ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ

Обратите внимание, что все Ваши ответы нужно вносить на Лист Ответов!

Задание 1. Приготовление препаратов дрожжей

На Вашем рабочем месте в микропробирках находятся две различные суспензии дрожжевых клеток, обозначенные буквами А и Б. В обеих суспензиях дрожжевые клетки размножаются вегетативно, однако в одной из суспензий можно найти клетки и в процессе полового размножения. Сделайте для каждой клеточной суспензии временный препарат и рассмотрите его. Зарисуйте на Листе Ответов дрожжевые клетки в процессе вегетативного (оба варианта) и в процессе полового размножения. В чем состоит различие между вегетативным размножением в первой и второй культурах? В какой культуре наблюдалось половое размножение? Покажите преподавателю Ваши временные препараты, он должен поставить Вам оценку за качество препаратов на Лист Ответов. Ответьте на Листе Ответов на вопросы, посвященные биологии и систематике дрожжей.

Задание 2. Анализ клеточного цикла

Сорок лет назад, в 1973 году американский биолог Лиланд Хартвелл описал у почкующихся дрожжей *S. cerevisiae* мутации (названные им *cdc*), влияющие на успешное прохождение различных этапов клеточного цикла. Рассмотрите рисунок из статьи Хартвелла, соотносящий различные *cdc* мутации и их клеточные фенотипы (рис 1):

Мутация (указаны номера <i>cdc</i> -мутаций)	Клеточный фенотип
1,19,25,29	
22,28,32	
24	
4	
2,6,7,8,9,13,16,17,20,21,23,26,30	
14,15,27,31	
5,18	
3,10,11,12	

Рисунок 1. Фенотипы дрожжей с мутациями в *cdc* генах

Укажите на листе ответов, какие процессы клеточного цикла нарушают указанные в нем мутации (показаны контуры клеток и клеточных агрегатов, ядра закрашены черным). Для ответа используйте рис. 2.

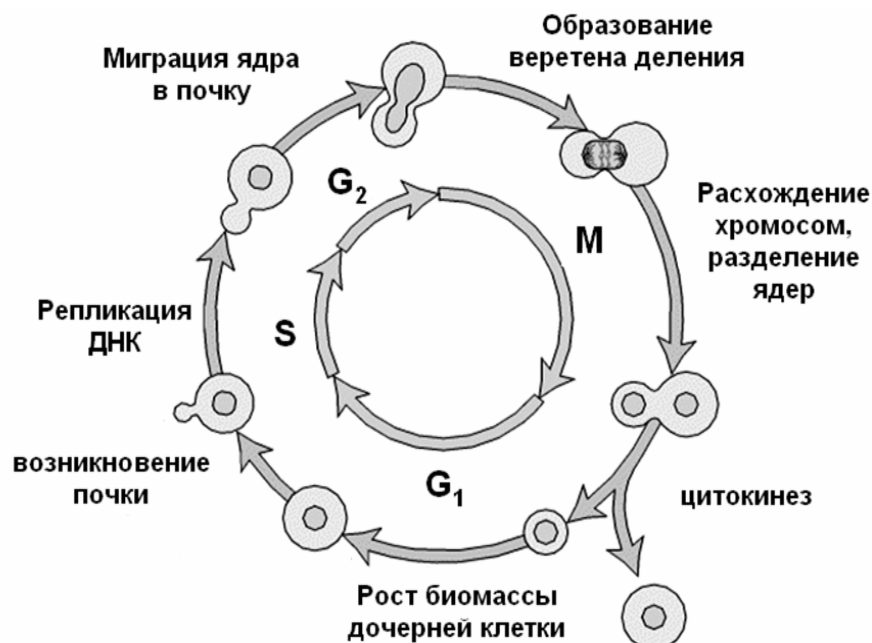


Рисунок 2. Клеточный цикл почкующихся дрожжей *S. cerevisiae*

Задание 3. Картирование генов у дрожжей методом тетрадного анализа

Дрожжи представляют собой модельный объект генетики, на котором удобно изучать мейотическую рекомбинацию. Диплоидные клетки дрожжей в определенных условиях (например, после добавления в среду небольшого количества ацетата натрия) переходят к мейозу, в результате которого из одной диплоидной клетки образуются четыре гаплоидных клетки (тетрада). Если диплоидные клетки были получены на основе двух исходных гаплоидных штаммов, контрастно различающихся по двум признакам (например, первый штамм ауксотрофен по одной аминокислоте a_1 , второй штамм ауксотрофен по другой аминокислоте a_2 , то тетрады могут быть трех типов – Р, где половина гаплоидов идентична первому родительскому штамму, а половина – второму; N – где половина гаплоидов ауксотрофна по обоим аминокислотам, а половина – прототрофна, и никто не похож на родительские штаммы; и Т, где каждый из четырех гаплоидов имеет свой собственный фенотип – двойной прототроф, двойной ауксотроф, ауксотроф по a_1 и ауксотроф по a_2 . Рассмотрите рисунок 3, на котором показаны фенотипы гаплоидных мутантов по генам *arg4* и *leu5*, их диплоидного гибрида и отдельные тетрады потомков, подпишите на Листе ответов типы тетрад. Определите расстояние между сцепленными

генами *arg4* и *leu5*, если при их анализе обнаружено 65 тетрад Р, 5 тетрад N и 30 тетрад Т. При ответе используйте формулу **Расстояние = $(T + 6N)/(2T + 2P + 2N)$** .

Ответьте на вопросы на Листе Ответов.

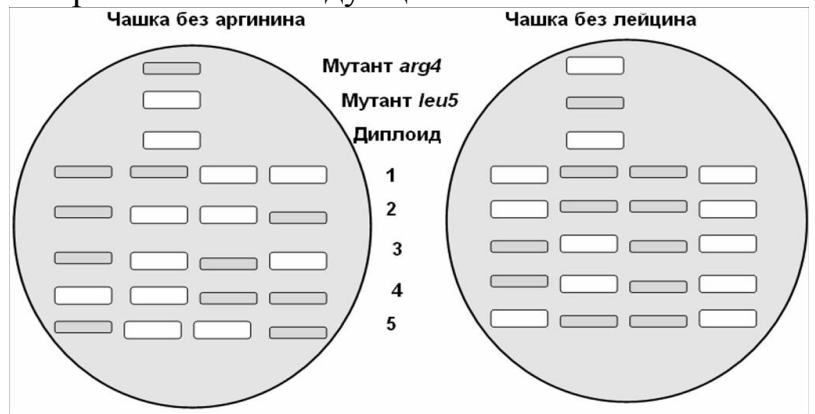


Рисунок 3 Результаты тетрадного анализа

Задание 4. Определение продолжительности отдельных фаз клеточного цикла

Определить продолжительность фаз клеточного цикла можно на основе анализа распределения клеток по количеству в них ДНК. Пример такого распределения приведен на рисунке 4. На нем на фазу А приходится 60%, на фазы Б и В в сумме приходится 15%, на фазу Г – 25%. Рисунок характеризует клеточную культуру, которая за 78 часа увеличила число клеток с 1 миллиона до 6 миллионов. Ответьте на вопросы, характеризующие эту культуру, на листе ответов. Учтите, что $\lg 2=0,3$, $\lg 6=0,78$.

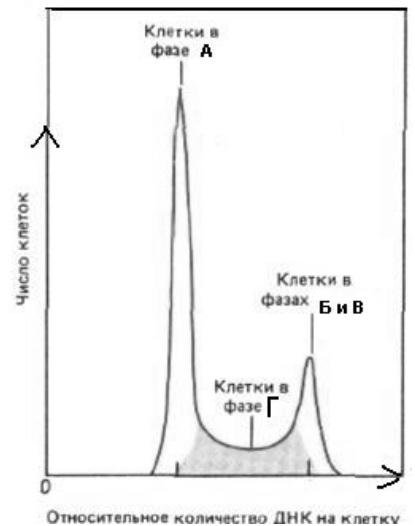


Рисунок 4. Распределение клеток по количеству в них ДНК

Задание 5. Анализ вестерн-блотов

Вестерн-блоттинг – распространенный полуколичественный метод определения белков, состоящий из четырех основных этапов: 1) лизис анализируемых клеток и подготовка к фореzu полученных клеточных лизатов; 2) разделение смеси белков на отдельные полосы в соответствии с их молекулярной массой с помощью гель-электрофореза в денатурирующих условиях; 3) перенесение белков из геля с сохранением картины полученных полос на мембрану из нитроцеллюлозы; 4) проявка белков на мембране с помощью специфических к анализируемому белку антител.

Как правило, для усиления сигнала используются вторичные антитела, узнающие первичные антитела и несущие специфический фермент, обеспечивающий детекцию участков мембраны, с которыми связались антитела. При добавлении к мембране субстрата данного фермента происходит образование цветного, флуоресцирующего или люминисцентного продукта в той же зоне. Таким образом, на мембране проявляется полоса, соответствующая интересующему белку.

На рисунке 5 представлены результаты вестерн-блоттинг анализа содержания белков транскрипционного фактора p53 (активирующего гены, участвующие в остановке клеточного цикла и запуске апоптоза) и гистона H2B в лизатах клеток трех опухолевых клеточных линий в сравнении с разным количеством лизата клеток нормальной ткани. Количество белка, нанесенное на фореzu, для каждой из клеточных линий было одинаковым и соответствовало 100% количества белка в образце нормальной ткани.

Определите, ориентируясь на раститровку (100%, 15%, 10% и 5% от количества белков в опухолевых образцах), количества p53 в каждой из трех клеточных линий, ответьте на вопросы на Листе Ответов.

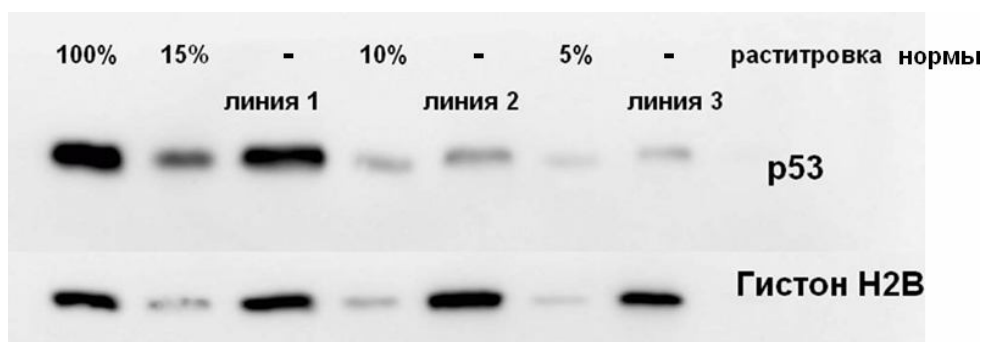


Рисунок 5. Количество белков p53 и H2B в опухолевых клеточных линиях на фоне раститровки лизата нормальных клеток.

Поздравляем с прохождением лаборатории клеточной биологии!

**Желаем успехов на следующих станциях практического тура
олимпиады!**

Фамилия _____
 Имя _____
 Регион _____
 Шифр _____

Шифр _____

Рабочее место _____

ЛИСТ ОТВЕТОВ

Задание 1. (5 баллов)



Вегетативное 1 - _____

Вегетативное 2 - _____








Половое - _____

Приготовление препарата (1 б) _____ (подпись члена жюри)

Ваши объекты относятся к типу Грибы, к классу _____ (0,5 б)

Переход от вегетативного к половому размножению у этого объекта связан с _____ (0,5 б)

Задание 2. Заполните таблицу (4 балла)

Мутация в гене	Фенотип	Нарушенный процесс
cdc28		
cdc24		
cdc4		
cdc8		
cdc31		
cdc5		
cdc3		

Фенотип использованных Хартвеллом мутантов проявлялся только при повышении температуры выращивания до 36° (в норме дрожжи растут при 23-25°). Температурочувствительность мутантов в этом эксперименте важна для того, чтобы _____

(0,5 балла)

Задание 3. (5 балла)

Типы тетрад: 1-____, 2-____, 3-____, 4-____, 5-____ (по 0,5 балла за каждую)

Генетическое расстояние между *arg4* и *leu5* составляет _____сМ (0,5 балла)

Кроссигвер в процессе мейоза проходит во время _____ (0,5 балла).

Сестринские хроматиды в мейозе расходятся в _____ (0,5 балла).

Одиночный кроссинговер между двумя сцепленными генами приводит к образованию тетрад _____ типа (0,5 балла).

Если два гена не сцеплены между собой, то количества тетрад _____ типа равно числу тетрад _____ типа (0,5 балла).

Задание 4. (3 балла)

Средняя продолжительность клеточного цикла культуры, приведенной на рисунке 4, составляет _____ часов (1 балл).

Фаза А соответствует фазе _____ клеточного цикла (0,2 балла) и продолжается в среднем _____ часов (0,3 балла).

Фазы Б и В соответствуют фазам _____ клеточного цикла (0,2 балла) и продолжаются в среднем _____ часов (0,3 балла).

Фаза Г соответствует фазе _____ клеточного цикла (0,2 балла) и продолжается в среднем _____ часов (0,3 балла).

Фазы Б и В нельзя разделить на основании количества ДНК, но можно различить на основании _____ (0,5 балла).

Задание 5. (3 балла)

Линия 1 содержит примерно _____% от нормального количества p53 (0,5 балла).

Линия 2 содержит примерно _____% от нормального количества p53 (0,5 балла).

Линия 3 содержит примерно _____% от нормального количества p53 (0,5 балла).

Клеточные линии, содержащие сниженное количество p53, очень плохо отвечают на ряд противоопухолевых препаратов, потому что _____ (0,5 балла).

Вестерн-блот на гистон H2B нужен в качестве контроля того, что _____ (0,5 балла).








При фракционировании клеток на ядерную и цитоплазматическую фракции, гистон H2B будет обнаруживаться в _____ фракции, бета-актин (другой часто используемый для контроля белок) - в _____ фракции (0,5 балла).

ЛИСТ ПРАВИЛЬНЫХ ОТВЕТОВ

Ваши объекты относятся к типу Грибы, к классу Аскомицеты (0,5 б)

Переход от вегетативного к половому размножению у этого объекта связан с неблагоприятными изменениями окружающей среды (0,5 б)

Мертвые клетки были в пробирке _____, потому что они окрасились метиленовым синим, который не проходит в живые клетки через плазмалемму (1 б)

Мутация в гене	Фенотип	Нарушенный процесс
cdc28		Начало нового клеточного цикла
cdc24		Образование почки
cdc4		Миграция ядра в почку
cdc8		Репликация ДНК
cdc31		Разделение ядер и расхождение хромосом
cdc5		Цитокинез
cdc3		Цитокинез

Температурочувствительность мутантов в этом эксперименте важна для того, чтобы иметь возможность нормально выращивать их при низкой перmissive температуре (0,5 балла)

Типы тетрад: 1-Т, 2-Р, 3-Н, 4-Т, 5-Р (по 0,5 балла за каждую)

Генетическое расстояние между *arg4* и *leu5* составляет 30 сМ (0,5 балла)

Кроссинговер в процессе мейоза проходит во время профазы I (0,5 балла).

Сестринские хроматиды в мейозе расходятся в анафазы II (0,5 балла).

Одиночный кроссинговер между двумя сцепленными генами приводит к образованию тетрад Т типа (0,5 балла).

Если два гена не сцеплены между собой, то количества тетрад Р типа равно числу тетрад Н типа (0,5 балла).

Задание 4. (3 балла)

Средняя продолжительность клеточного цикла культуры, приведенной на рисунке 4, составляет 30 часов (1 балл).

Фаза А соответствует фазе G₁ клеточного цикла (0,2 балла) и продолжается в среднем 18 часов (0,3 балла).

Фазы Б и В соответствуют фазам G₂ и М клеточного цикла (0,2 балла) и продолжаются в среднем 4,5 часов (0,3 балла).

Фаза Г соответствует фазе S клеточного цикла (0,2 балла) и продолжается в среднем 7,5 часов (0,3 балла).

Фазы Б и В нельзя разделить на основании количества ДНК, но можно различить на основании морфологии клеточного ядра и гранулярности клетки (0,5 балла).

Задание 5. (3 балла)

Линия 1 содержит примерно 100% от нормального количества p53 (0,5 балла).

Линия 2 содержит примерно 10-15% от нормального количества p53 (0,5 балла).

Линия 3 содержит примерно 5-10% от нормального количества p53 (0,5 балла).

Клеточные линии, содержащие сниженное количество p53, очень плохо отвечают на ряд противоопухолевых препаратов, потому что не останавливают пролиферацию и не уходят в апоптоз в ответ на ДНК-повреждающие цитостатики (0,5 балла).

Вестерн-блот на гистон H2B нужен в качестве контроля того, что на гель нанесено одинаковое количество образцов из опухолевых клеток (0,5 балла).

При фракционировании клеток на ядерную и цитоплазматическую фракции, гистон H2B будет обнаруживаться в ядерной фракции, бета-актин (другой часто используемый для контроля белок) - в цитоплазматической фракции (0,5 балла).

Фамилия _____
Имя _____
Регион _____
Шифр _____

Шифр _____

ЗАДАНИЯ
практического тура заключительного этапа
XXIX Всероссийской олимпиады школьников по биологии 2013 г.
г. Оренбург. 11 класс

ЭТОЛОГИЯ

Задание 1. Исследование поведенческой реакции рыб *Brachydanio rerio* на некое воздействие. (7 баллов)

Сразу после некоего воздействия, двух рыб *Brachydanio rerio* (контрольную и опытную) поместили на 5 минут в новые аквариумы при ярком свете и провели видеосъемку их поведения (см. файлы на рабочем столе компьютера «Рыба1» и «Рыба2»). Далее видеозаписи эксперимента обработали при помощи системы видеотрекинга (см. рис.1а и 1б в файле «Этология_2013»).

1.1. Изучите представленные Вам результаты эксперимента и сравните рыб по перечисленным ниже поведенческим признакам. Для этого, в Таблице 1 поставьте соответствующие математические знаки (больше – «>», меньше – «<») или «0», если этот признак не выявлялся или по нему не было отличий (образец см. в п.1.3).

Таблица 1

	1.	Средняя скорость	Рыба 1		Рыба 2
	2.	Время движения	Рыба 1		Рыба 2
	3.	Количество разворотов	Рыба 1		Рыба 2
	4.	Потеря естественной позы	Рыба 1		Рыба 2
	5.	Время в верхней части аквариума	Рыба 1		Рыба 2
	6.	«Броски» в сторону	Рыба 1		Рыба 2
	7.	Количество замираний	Рыба 1		Рыба 2
	8.	Число судорог	Рыба 1		Рыба 2
	9.	Количество захватываний воздуха	Рыба 1		Рыба 2
	10.	Время груминга	Рыба 1		Рыба 2
	11.	Латентный период выхода в верхнюю половину аквариума	Рыба 1		Рыба 2

1.2. Какое поведение демонстрирует рыба 2 (подчеркните нужное)?

тревожность; любопытство; утомление; гиперактивность; половое поведение

1.3. Отметьте в таблице знаком «X» те параметры, на которых вы основывались при выборе формы поведения рыбы 2. Образец оформления:

X	Параметр	Рыба 1	> , < или «0»	Рыба 2
---	----------	--------	------------------	--------

Задание 2. Тест на социальное взаимодействие рыб *Brachydanio rerio*. (3 балла)

Далее с обеими рыбами проделали тест на социальное взаимодействие (см. рис 2 в файле «Этология_2013»). Для этого каждую исследуемую рыбу сажали в новый аквариум:

- с непрозрачными стенками;
- с одной прозрачной стенкой;
- в аквариум, рядом с которым находилась рыба, не подвергавшаяся воздействию.

Регистрировали время нахождения рыбы в разных точках аквариума в течение 5 минут.

2.1. Какое поведение демонстрируют рыбы (подчеркните нужное)?

оборонительное; половое; стайное; пищевое; агрессивное.

2.2. Какая из видео записей («Рыба1» и «Рыба2») соответствует опытной рыбе из первого задания? _____

Задание 3. Выявление гормонов, ответственных за наблюдаемые поведенческие эффекты. (5 баллов)

После опытов были сделаны срезы мозга обеих рыб и проведена РНК in-situ гибридизация для выявления гормонов, ответственных за наблюдаемые поведенческие эффекты. На рисунке 3 (см. А и Б в файле «Этология_2013») изображены срезы мозга рыб и клетки, экспрессирующие данное вещество.

3.1. Через какую область прошел срез? _____

3.2. Какую роль выполняет данная структура мозга у рыбы? _____

3.3. Синтез какого вещества отображен на срезе (подчеркните)?

ацетилхолин; кортиколиберин; адренкортикотропный гормон; вазопрессин; адреналин

3.4. Какой эффект данное вещество оказывает на поведение рыбы? _____

Задание 4. (5 баллов)

4.1. На основании проведенных выше экспериментов определите, какое (или какие) вещество было введено опытной рыбе (подчеркните нужное)?

этанол; адренкортикотропный гормон; адреналин;

гамма-аминомасляная кислота; вещества не было – рыбу напугали.

4.2. Приведите доводы в подтверждение вашей гипотезы:

1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

5. _____

Рис 1А. Показатели двигательной активности рыбы 1 (Trial4)

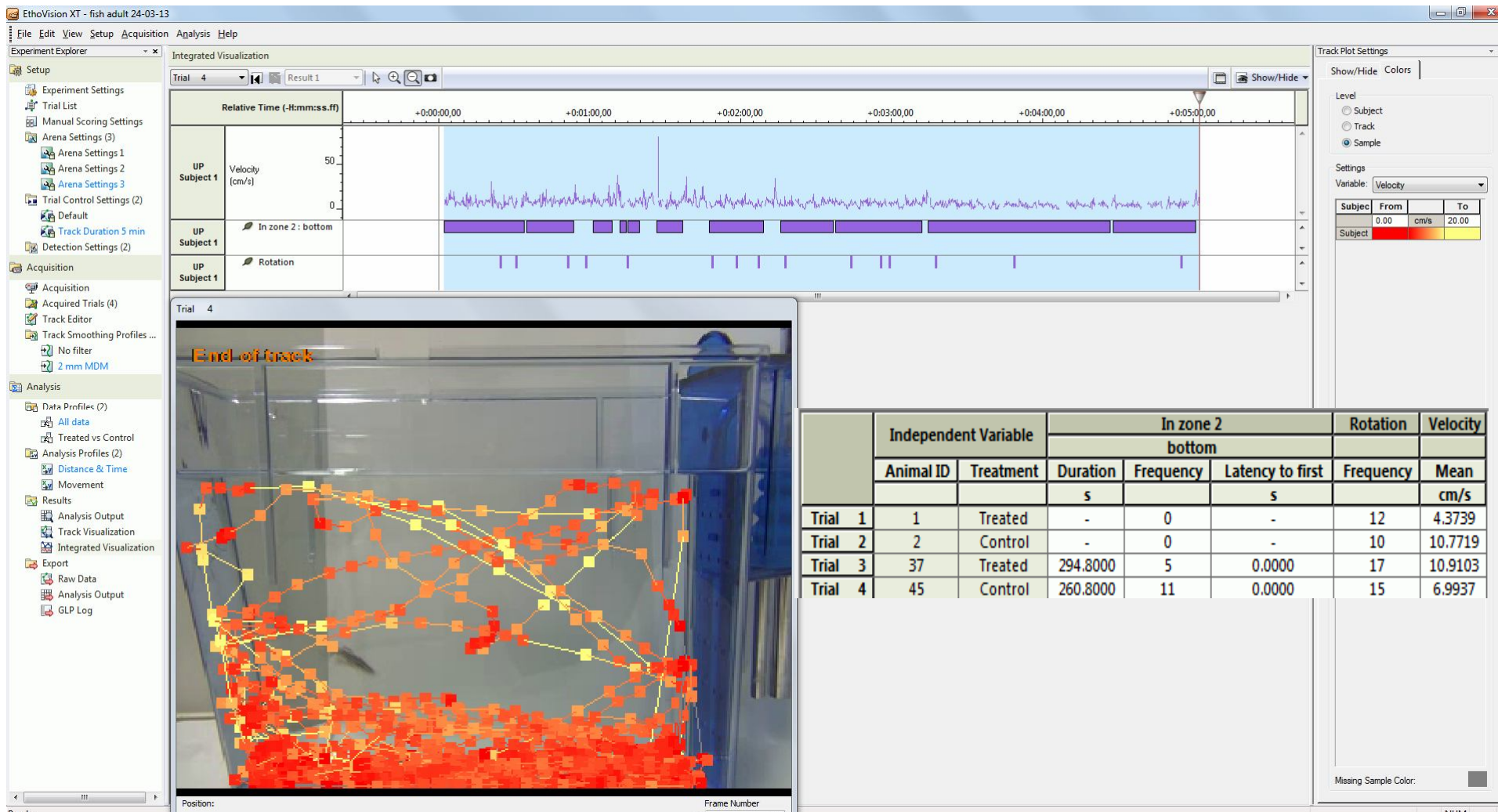


Рис 1Б. Показатели двигательной активности рыбы 2 (Trial3)

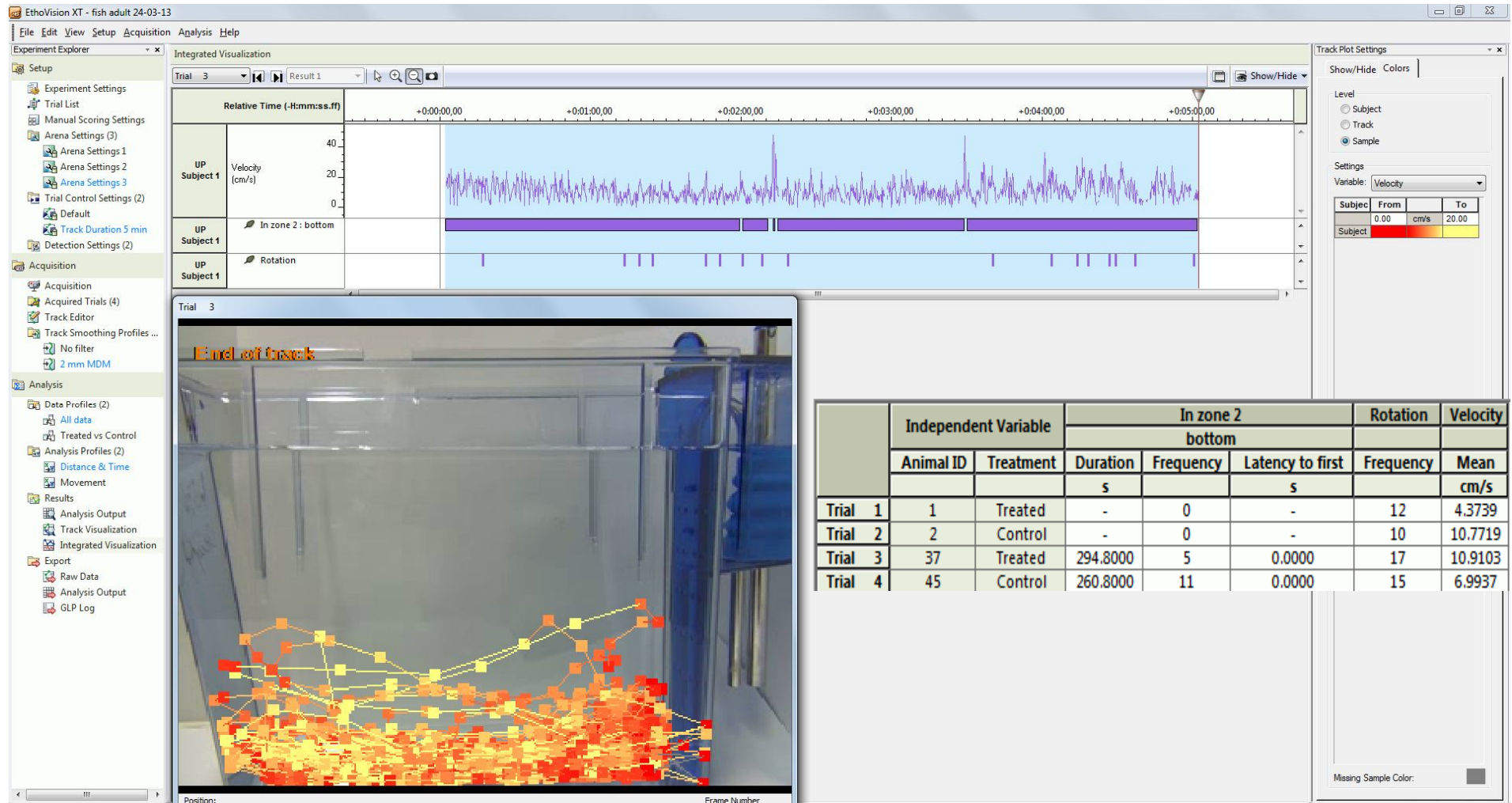
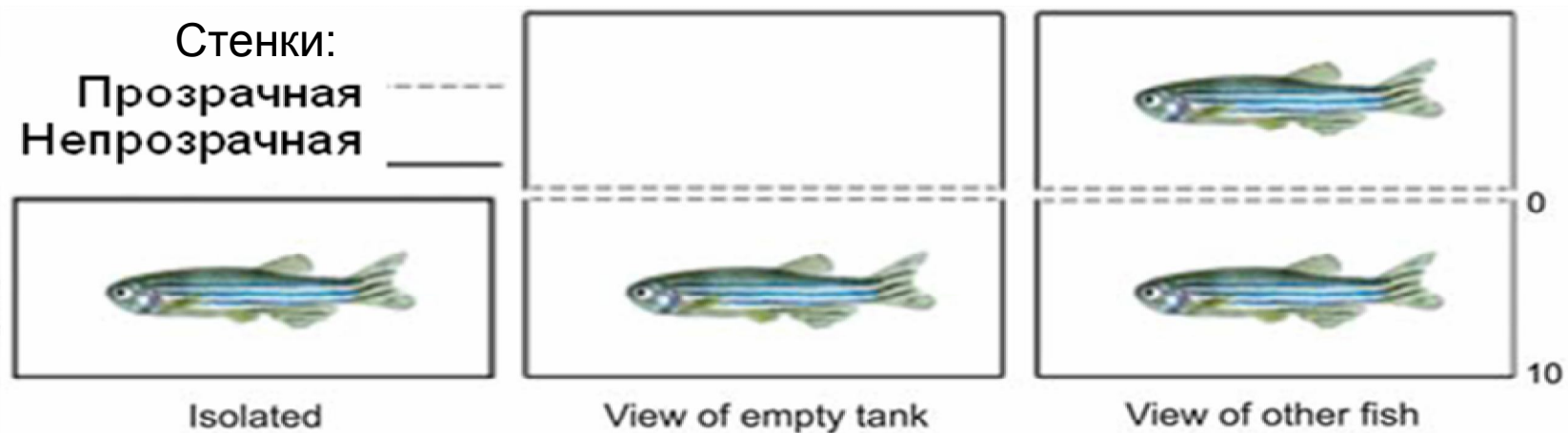


Рисунок 2.

Схема эксперимента



Запись поведения

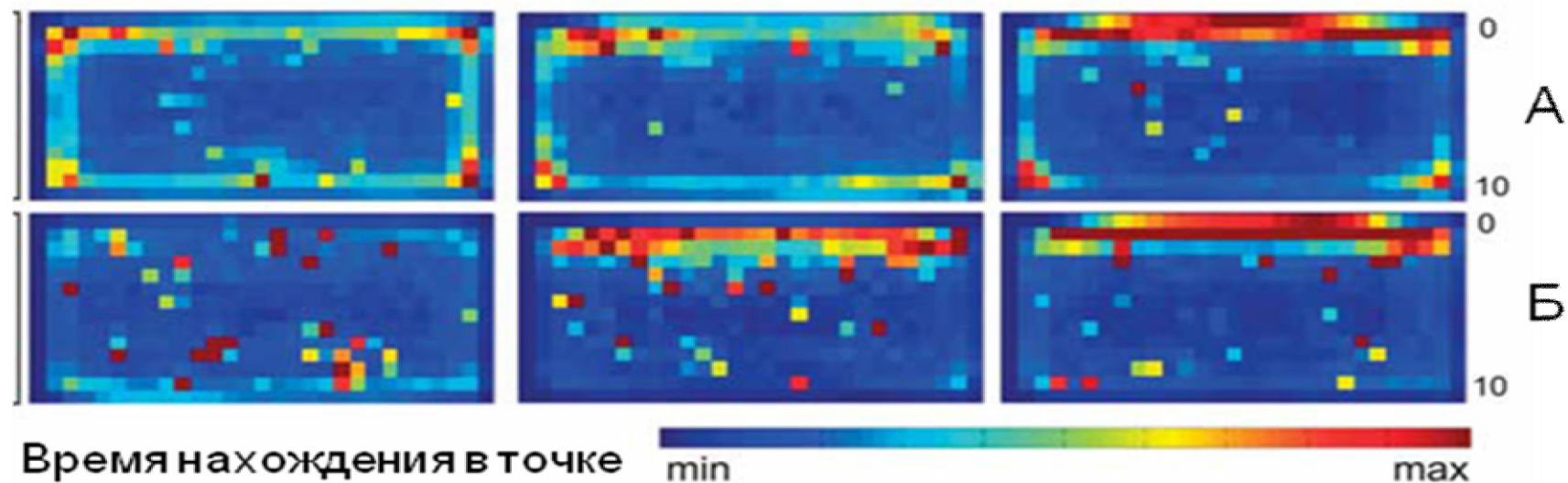
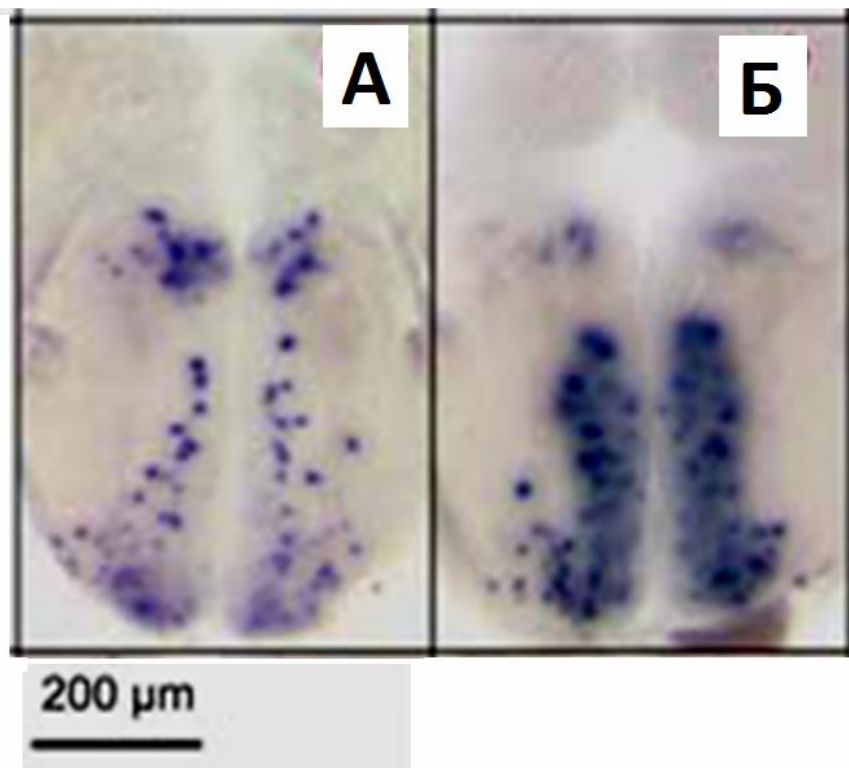
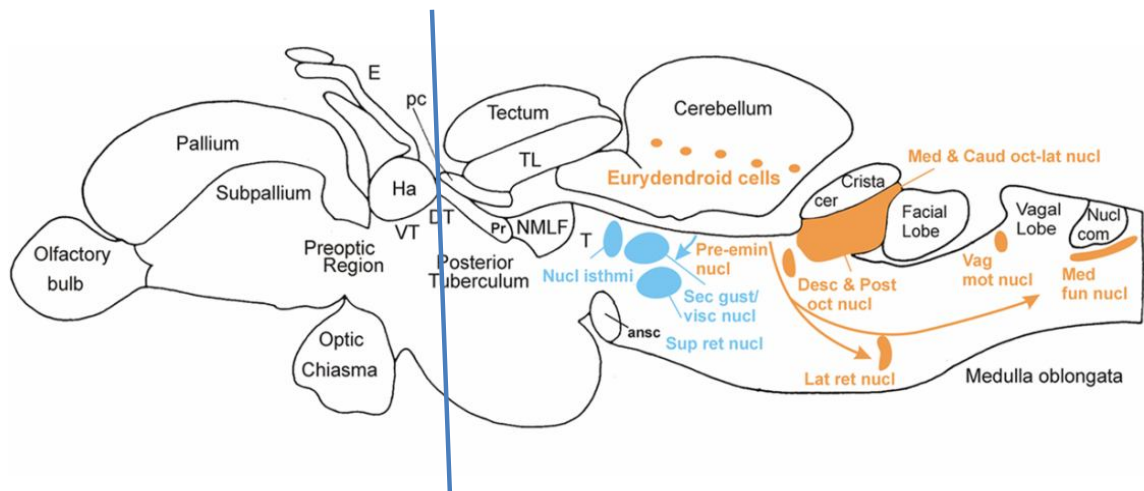


Рисунок 3.



ИНСТРУКЦИЯ ПО РАБОТЕ С АВТОМАТИЧЕСКИМИ ПИПЕТКАМИ



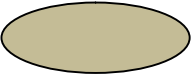











Рис. Устройство автоматической пипетки.

Для эксперимента предоставляются пипетки объемом 100–1000 μl . Объем устанавливается путем вращения **установочного кольца**. Обозначение объема должно быть прочитано сверху вниз. Обратите внимание, что обозначение объема на пипетке имеет только три знака. Следовательно, «100» соответствует 1000 μl , «50» – 500 μl , «10» – 100 μl . После присоединения подходящего наконечника нажмите **контрольную кнопку** до первой остановки и поместите наконечник в жидкость. Медленно отпустите кнопку до достижения ею полной остановки для набирания образца. Затем поместите наконечник с жидкостью в необходимое место и медленно нажмите кнопку до второй остановки, пока вся жидкость полностью не выйдет из наконечника.

Аккуратно и экономично используйте наконечники!!! Один наконечник нельзя погружать в разные растворы! Однако если Вы отбираете одну и ту же жидкость – пользуйтесь одним наконечником.

Сбросьте использованный наконечник в отходы нажатием **кнопки сброса**.

	Печень	Мозг	Мышцы
Холестерин			
Фосфотидил-этаноламин			
Фосфатидил-холин			
Сфингомиелин			
Фосфатидил-серин	