ЗАДАНИЕ
практического тура заключительного этапа
XLI Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2024-25 уч. год.

Для человека, не знакомого с естественной историей,
пребывание среди природы подобно посещению художественной галереи,
заполненной удивительными произведениями искусства,
90% которых повернуты лицом к стене
Томас Гексли

11 класс. БИОСИСТЕМАТИКА И ЭКОЛОГИЯ

НАСЕКОМЫЕ И ИХ ЗНАКОМЫЕ

Продолжительность работы – 45 минут. Максимум 50 баллов.
Обратите внимание, что проверяется ТОЛЬКО ЛИСТ ОТВЕТОВ.

Оборудование: стереомикроскоп со встроенным освещением, чашка Петри с объектом, препаровальные иглы, определительный ключ, программируемый калькулятор, компьютеры с подключенной базой данных *The Paleobiology Database*.

Введение

Вы плывёте на пароме по реке в центральной России. Ничего не тревожит тихий, томный и тёплый вечер. Берегов не видно, и лишь паромный фонарь мелькает впереди. Вдруг из ниоткуда к фонарю поднимается рой насекомых. Быстро взмахивая крыльями, они взмывают вверх, а затем буквально замирают, несколько секунд паря в воздухе благодаря большой паре передних крыльев и хвостовым нитям. Потом опять взлёт и падение. Опытный исследователь ни с чем не перепутает этот воздушный вальс – перед вами брачный танец подёнок.

Жизненный цикл подёнок включает четыре стадии: яйцо, личинка (нимфа), субимаго и имаго. Самки откладывают яйца в воду, из которых вылупляются личинки с удлинённым телом, разделённым на голову, грудь и брюшко. Личинки имеют три пары ног с коготками, жабры на первых семи сегментах брюшка и хвостовые нити (церки и парацерки) для стабилизации при плавании. Они ведут донный образ жизни, обитая на камнях, растениях или в песке, некоторые виды роют норы или плавают в воде пресных водоемов. Личинки – важная диагностическая стадия, различающаяся морфологически у разных видов. Взрослые подёнки живут несколько часов или дней, не питаются и размножаются.

Часть 1. Что в чашке?

Задание 1.1. [12 баллов] В чашке Петри на вашем рабочем столе находится личинка подёнки. Используя определительный ключ (см. *Приложение 1*), определите объект до рода. Впишите номера **ВЫБРАННЫХ** вами тез определителя в **Лист ответов**.

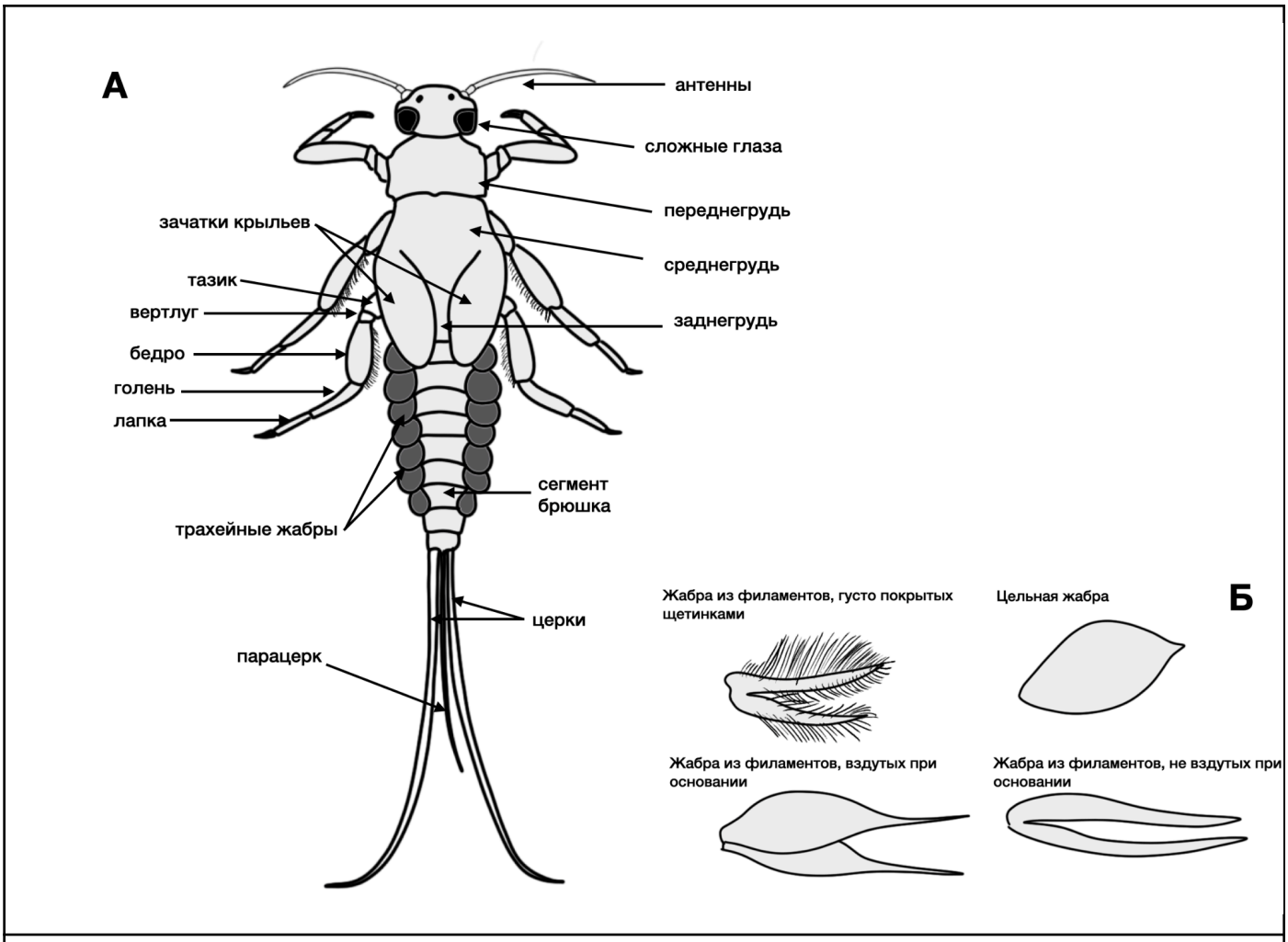


Рисунок 1. Схема строения личинки подёнки (А) и варианты строения трахейных жабр (Б).

Задание 1.2. [10 баллов] Личинки подёнок чрезвычайно экологически разнообразны. Они встречаются в разных типах местообитаний в пределах водоёмов и могут занимать различные трофические уровни. Перед Вами представлено несколько видов личинок подёнок (см. рис. 2).

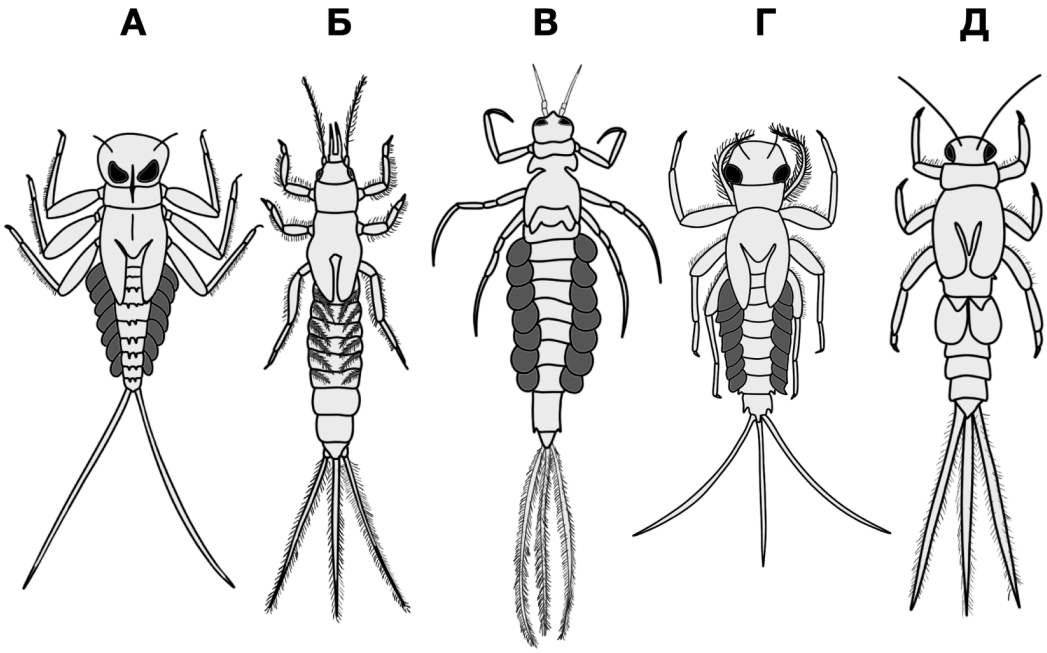


Рисунок 2. Разнообразие личинок подёнок

Определите типы местообитаний, в которых эти личинки могут жить. Для каждой личинки (рис. 2) укажите в **Листе ответов** тип местообитания **в виде номера** из таблицы 1.

Таблица 1. Экологические группы личинок подёнок.

Тип местообитания
1. Водоёмы с сильным течением, личинка прикрепляется к камням 2. Водоёмы со слабым течением, личинка ползает по дну водоёма, обычно не зарываясь в ил 3. Морские водоёмы, личинка в течение всего жизненного цикла является планктонным организмом 4. Личинка роет ходы (галереи) в грунте берегов рек и ручьёв 5. Водоёмы со слабым течением, личинка ползает по дну и активно плавает в толще воды

Задание 1.3. [2 балла] Внимательно рассмотрите личинку в чашке Петри на вашем рабочем столе. Предположите, какой тип местообитания наилучшим образом ей соответствует. В **Листе ответов**, укажите тип местообитания **в виде номера** из таблицы 1.

Часть 2. Биогеография подёнок.

Возникновение и распространение подёнок по земному шару представляет неподдельный интерес палеоэнтомологов и позволяет судить о характере местообитаний и климатических изменений в разных частях света.

Задание 2.1. [4 балла] Используя инструкцию по работе с палеонтологической базой данных The Paleobiology Database https://paleobiodb.org/navigator/ (см. *Приложение 2*), определите период, которым датированы древнейшие находки первых представителей систематической группы подёнок (Ephemeroptera), а также континент, на котором они обитали. В **Листе ответов** укажите период и континент **в виде номера** из таблицы 2.

Таблица 2. Палеонтологические периоды и континенты.

Датировка древнейшей находки подёнок	**Континент обитания древнейших подёнок**
1. Кембрий (Cambrian) 2. Ордовик (Ordovician) 3. Силур (Silurian) 4. Девон (Devonian) 5. Карбон (Carboniferous) 6. Пермь (Permian) 7. Триас (Triassic) 8. Юра (Jurassic) 9. Мел (Cretaceous) 10. Палеоген (Paleogene)	1. Антарктида 2. Южная Америка 3. Евразия 4. Африка 5. Лавразия 6. Гондвана 7. Паннотия 8. Пангея 9. Австралия

Задание 2.2. [10 баллов] На карте представлено видовое и родовое богатство, а также степень эндемизма подёнок в разных биогеографических зонах Земли (см. рис. 3). Выберите верные утверждения, используя представленные карты и палеонтологическую базу данных из предыдущего задания. Поставьте знак “X” в поле ВЕРНО или НЕВЕРНО **в Листе ответов**.

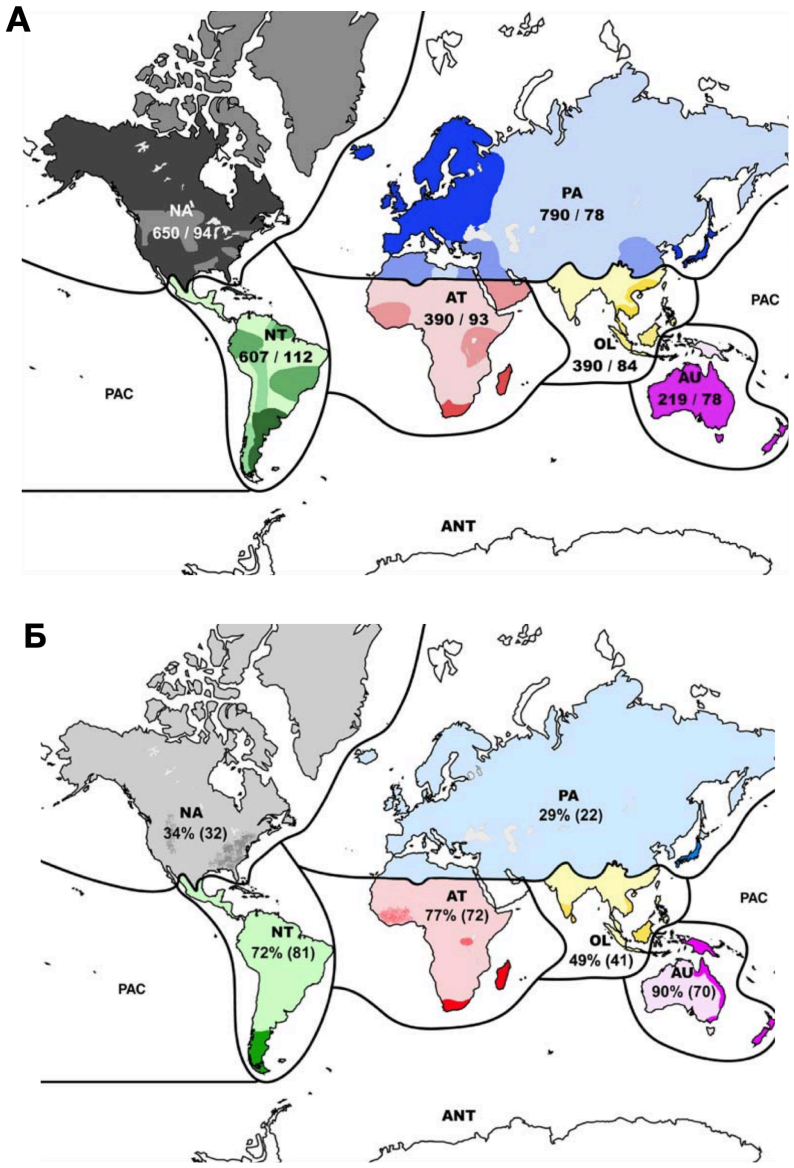


Рисунок 3. Фаунистическое богатство (А) и эндемизм (Б) у подёнок в разных биогеографических областях. Видовое богатство представлено в виде количества видов/родов, которые встречаются в пределах определенной биогеографической зоны. На графике видового богатства тёмным цветом обозначена степень изученности определенного региона в пределах биогеографической зоны.
Эндемизм измерялся на уровне родов, в скобках указано количество эндемичных родов для данной биогеографической зоны. На графике эндемизма тёмным цветом показаны области, для которых характерен наибольший эндемизм в пределах биогеографической области.
PA – палеарктическая зона, NA – неарктическая зона, NT – неотропическая зона, AT – афротропическая зона, OL – индомалайская зона, AU – австралийская зона, PAC – тихоокеанская зона.

Утверждения:

А. Наибольшая доля эндемичных родов описана для Австралийской зоны.

Б. Одной из последних биогеографических зон, которую колонизировали подёнки, была Австралийская.

В. Абиотическая катастрофа (падение астероида) на границе мела и палеогена привела к резкому снижению численности поденок.

Г. В Южной Америке обитает 81 род подёнок, которые встречаются, как минимум, в еще одной биогеографической зоне.

Д. Разнообразие подёнок по-видимому, снижалось сильнее под влиянием биотических факторов среды, в частности, развития цветковых растений, чем под влиянием абиотических катастроф (например, падения астероидов).

Часть 3. Экология питания подёнок.

Соотношение стабильных изотопов азота (^{14}N и ^{15}N) позволяет определить трофический уровень организма и его место в трофической сети. Обычно для сравнения используют соотношение изотопов в образце по отношению к атмосферному соотношению. Однако для примерной оценки можно сравнивать долю изотопа ^{15}N, полученного из животных разных трофических уровней. С повышением трофического уровня у животных происходит накопление тяжёлого изотопа ^{15}N.

Задание 3.1. [4 балла]

Представим, что вам известны доли изотопа ^{15}N для растительноядных и хищных подёнок (см. табл. 3). Вы поймали несколько подёнок одного вида из ручья в деревне Хрущёво Рузского городского округа Московской области. Затем вы сделали из них гомогенат и определили содержание изотопа ^{15}N в полученном образце. Какой из предложенных статистических тестов из *Приложения 3* вы будете использовать для того, чтобы статистически обосновать трофический уровень исследуемого организма? В **Листе ответов**, укажите статистический тест **в виде номера (1-6)** из *Приложения 3*.

Таблица 3. Содержание изотопа ^{15}N у подёнок с разным типом питания (в ‰)*

Тип питания	**Содержание ^{15}N (в ‰)**
фитофаги	3,9
хищники	27,5

* Перевод единиц: 1 ‰ = 0,1 % = $^{1}/_{1000}$ = 0,001

Задание 3.2. [6 баллов]

При анализе 3200 атомов азота содержание изотопа ^{15}N составило 5,3‰. Используя выбранный критерий из задания 3.1, сравните содержание изотопа в вашей пробе с двумя значениями по отдельности и определите, с какой из групп на 5% уровне значимости можно обнаружить различие. Используйте одностороннюю альтернативную гипотезу. Для нахождения вероятностей из подсчитанной статистики критерия используйте *Приложения 4 и 5.* В **Листе ответов** укажите значения статистики теста, округлив его **до второго знака после запятой**, вероятность получить такое значение при верной нулевой гипотезе, а также вывод относительно нулевой гипотезы. Поправкой на множественное тестирование можно пренебречь.

Задание 3.3. [2 балла]

Сделайте вывод о том, к какой из двух экологических групп по типу питания относится исследуемый Вами организм. В **Листе ответов** напишите выбранный тип питания.

Вы хорошо поработали и попытались решить сложные задания

Желаем Вам удачи!

Приложение 1. Определительный ключ для отряда подёнки (Ephemeroptera).

Дихотомический ключ — это инструмент, который используется для определения и классификации организмов на основе их характерных признаков. Он представляет собой последовательность парных альтернативных утверждений (тез и антитез), которые постепенно сужают круг возможных вариантов до одного конкретного результата.

На каждом этапе предлагается выбрать один из двух вариантов, который соответствует наблюдаемому признаку объекта. Например, если дихотомический ключ используется для определения животного, то первый вопрос может быть: "Объект имеет позвоночник?" Если ответ "Да", то далее спрашивают: "Объект покрыт перьями?" Если снова "Да", то это птица, а если "Нет", то можно продолжить уточнение, например: "Объект покрыт шерстью?" Если ответ положительный, то это млекопитающее. Тезы в ключе обозначены цифрами. Если теза верна, то надо переходить к следующей за ней тезе. Если теза неверна, то необходимо перейти на антитезу (номер дан в скобочках).

1 (4). Все пары трахейных жабр, кроме самой первой пары, прикрыты специальными жаберными крышечками.

2 (3). На сегментах брюшка по бокам имеется 5 боковых парных выростов, покрытых щетинками. Семейство Caenidae, род *Brachycercus*.

3.Выростов на брюшке нет. Хитиновая капсула голова без утолщений (трабекул). Семейство Caenidae, род *Caenis*.

4. Жабры не покрыты крышками, свободно расположены на брюшке или полностью отсутствуют.

5 (8) Жабры крупные, густо покрыты щетинками.

6 (7) Каждая жабра состоит из двух лепестков, плотно прилегает к брюшку со спинной стороны. Семейство Ephemeridae, род *Ephemera*.

7. Каждая жабра состоит из двух лепестков, однако, они не прижаты к брюшку со спинной стороны, а располагаются по бокам свободно. Семейство Potamanthidae, род *Potamanthus*.

8. Жабры слабо покрыты щетинками, либо не покрыты ими вовсе.

9 (12) Тело уплощенное, голова имеет округлую форму, глаза крупные, расположены на спинной (дорзальной) поверхности головы.

10 (11) Бедра ног очень хорошо развиты, коготки цепкие, на бедрах видно черное пятно. Семейство Heptageniidae, род *Rhithrogena*.

11. Бедра ног очень хорошо развиты, коготки цепкие, на бедрах отсутствует черное пятно. Семейство Heptageniidae, род *Heptagenia*.

12. Тело не уплощенное, прогонистое (длина тела многократно превышает ширину). Глаза расположены сбоку (латерально).

13 (14) На брюшке располагается 4 пары единых плоских жабр, не поделенных на филаменты (лепестки). Семейство Ephemerellidae, род *Ephemerella*.

14. Жабр больше 4-ех пар, обычно 6 или 7.

15 (18) Каждая жабра состоит из нескольких филаментов. Церки и парацерк по длине равны или превосходят длину тела.

16 (17) Каждая жабра состоит из 2 филаментов, каждый из которых вздут при основании. Семейство Leptophlebiidae, род *Leptophlebia*.

17. Каждая жабра состоит из 2 и более филаментов, каждый из которых не вздут при основании. Семейство Leptophlebiidae, род *Paraleptophlebia*.

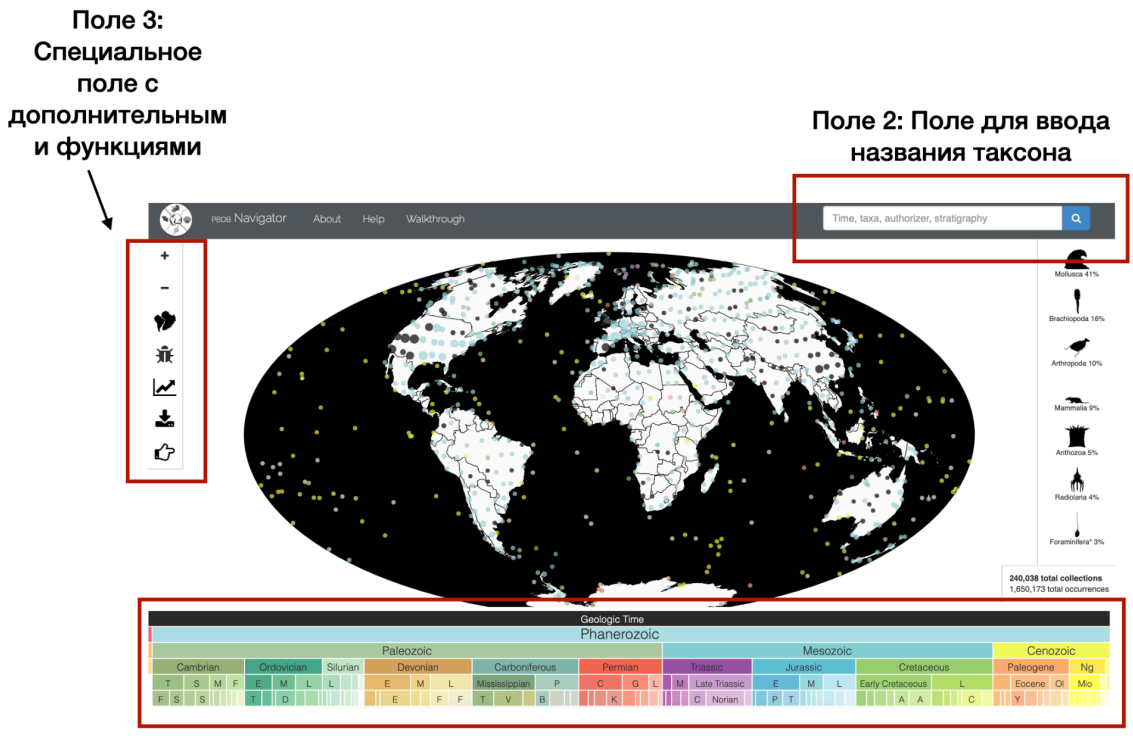
18. Жабра единая и не состоит из филаментов. Углы сегментов брюшка заостренные.

19 (20) Парацерк короче, чем церки, густо покрыты плавательными щетинками. На парацерках отсутствуют пятна или членники черного цвета. Жабры плоские, округлые или овальные. Семейство Baetidae, род *Baetis*.

20. Парацерк такой же длины, как и церки. Первые несколько пар жабр покрыты черными точками. На церках и парацерках есть полоса ярко-черного цвета протяженностью 10-12 членников. Семейство Baetidae, род *Cloeon*.

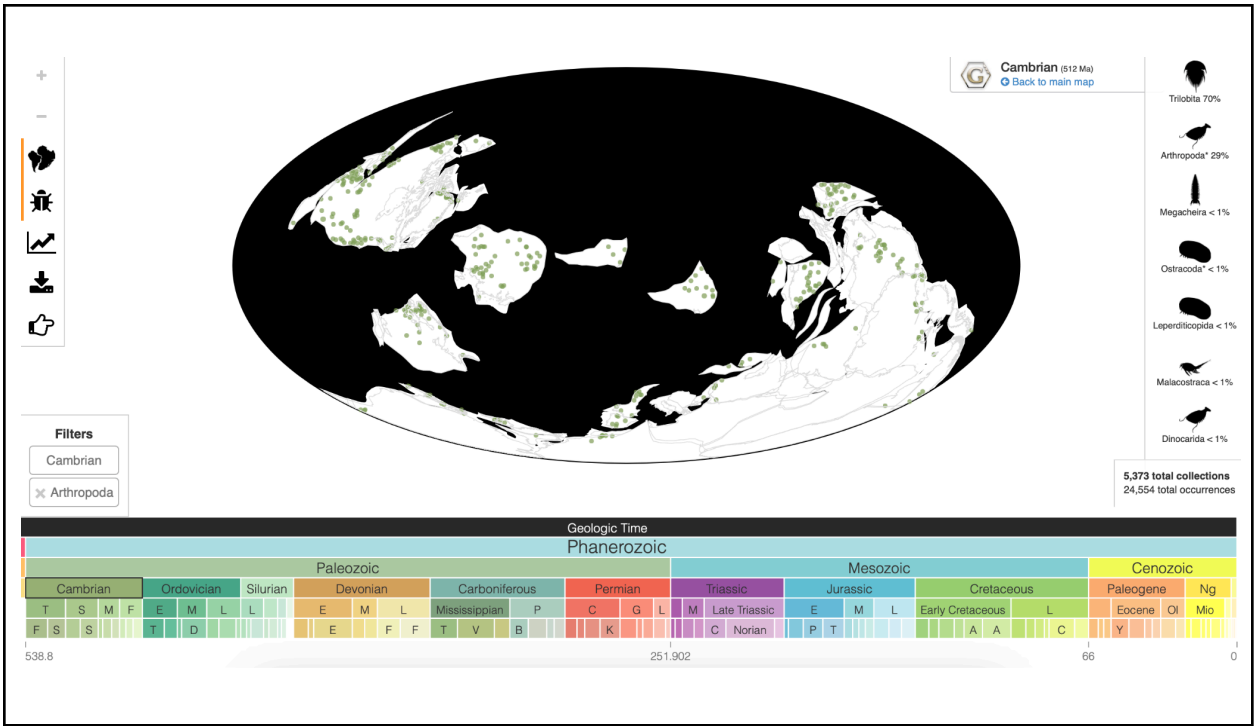
Приложение 2. Инструкция по использованию палеонтологической базы данных The Paleobiology Database.

Палеонтологическая база данных собирает данные об огромном количестве находок с их точной привязкой к геологическому времени. Каждая точка на карте обозначает конкретную находку или серию находок в определенном геологическом пласте. Изначально в интерфейсе показаны все континенты с их современным положением. **Поле 1** показывает геохронологическую шкалу, а также обозначает цвета точек, которые соответствуют цветам периодов и эр, выбранным международной комиссией по стратиграфии. В **поле 2** можно ввести название таксона (различных рангов) для того, чтобы на карте отображались только находки, относящиеся к этому таксону. В **поле 3** располагаются специальные инструменты по работе с базой данных. Знаки “+” и “–” позволяют увеличивать или уменьшать масштаб карты.



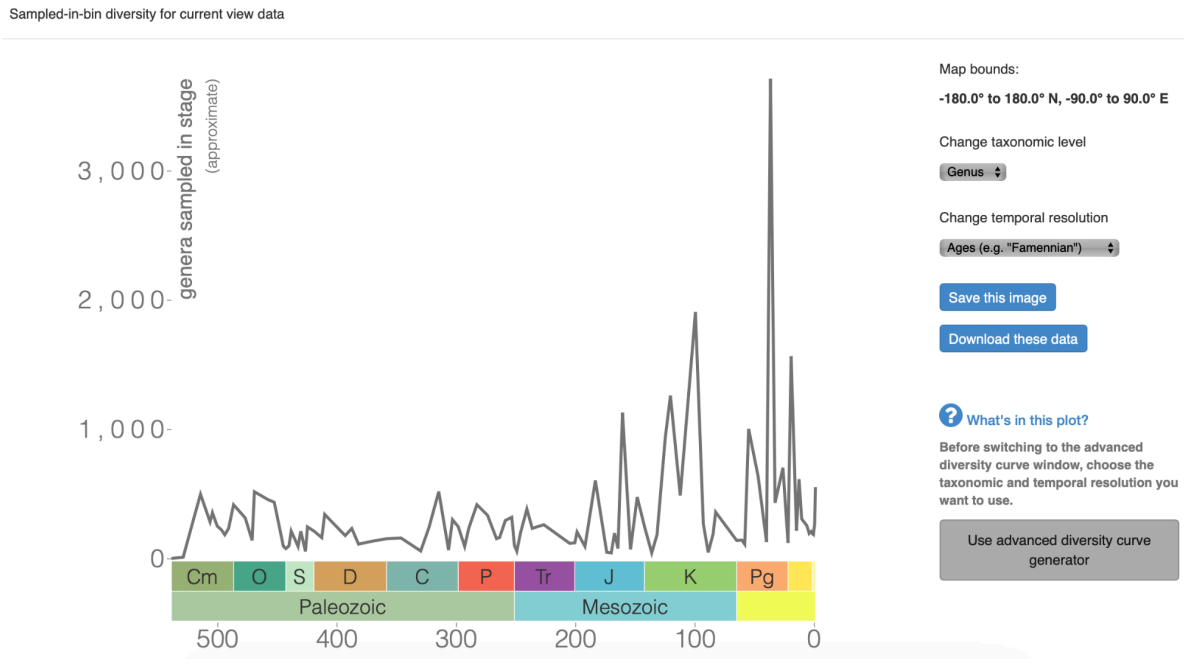
Основной интерфейс базы данных

Иконка с материком в боковом меню позволяет реконструировать положение материков и их состав в определенное геологическое время. После нажатия на кнопку база данных попросит пользователя выбрать определенный временной интервал на геохронологической шкале (**поле 1**).



Реконструкция суперконтинентов при помощи базы данных

Иконка с графиком позволяет реконструировать разнообразие таксона с разным шагом по времени. Разнообразие можно оценивать на уровне родов, семейств и порядков. **Обратите внимание**, что разнообразие реконструируется для выбранной области на карте. Если необходимо реконструировать разнообразие для всей планеты, то масштаб нужно привести к исходному (кнопка “–” в **поле 3**).



Реконструированное разнообразие таксона Членистоногие “Arthropoda” на уровне родов. В качестве шкалы времени используются геохронологические века (например, оценивается общее количество родов, которые относятся к группе членистоногие в фаменский век девонского периода палеозойской эры)

Приложение 3. Некоторые параметрические статистические критерии.

μ – математическое ожидание, σ – стандартное отклонение генеральной совокупности, $\bar{x}$ – выборочное среднее, s – выборочное стандартное отклонение, p – пропорция в генеральной совокупности, $\bar{p}$ – выборочная пропорция, n - количество элементов в выборке.

№	Оцениваемая величина	Статистика теста	Используемое распределение	Условия применимости
1	μ	$z = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}}$	Нормальное	Стандартное отклонение генеральной совокупности известно ИЛИ размер выборки (n) > 40
2	$\mu_1 - \mu_2$	$z = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{\sigma^2_1}{n_1} + \frac{\sigma^2_2}{n_2}}}$	Нормальное	Стандартное отклонение генеральной совокупности известно ИЛИ размер выборок (n) > 40
3	μ	$t = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$	t-распределение	Стандартное отклонение генеральной совокупности неизвестно и размер выборки (n) < 40
4	$\mu_1 - \mu_2$	$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s^2_1}{n_1} + \frac{s^2_2}{n_2}}}$	t-распределение	Стандартное отклонение генеральной совокупности неизвестно и размер выборок (n) < 40
5	p	$z = \frac{\bar{p} - p}{\sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}}$	Нормальное	Пропорция (доля) распределена биномиально (или приближена к этому распределению). np>10
6	$p_1 - p_2$	$z = \frac{\bar{p}_1 - \bar{p}_2}{\sqrt{\frac{p_1(1-p_1)}{n_1} + \frac{p_2(1-p_2)}{n_2}}}$	Нормальное	Пропорции (доли) распределены биномиально (или приближена к этому распределению). $n_1 p_1 > 10$ и $n_2 p_2 > 10$

Приложение 4. Таблица стандартного нормального распределения.

(значения z-статистики: в строках целые и десятые, в столбцах сотые. В ячейках таблицы вероятность получить такое значение или меньше)

	0.00	**-0.01**	**-0.02**	**-0.03**	**-0.04**	**-0.05**	**-0.06**	**-0.07**	**-0.08**	**-0.09**
-3.4	0.0003	0.0003	0.0003	0.0003	0.0003	0.0003	0.0003	0.0003	0.0003	0.0002
-3.3	0.0005	0.0005	0.0005	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004	0.0003
-3.2	0.0007	0.0007	0.0006	0.0006	0.0006	0.0006	0.0006	0.0005	0.0005	0.0005
-3.1	0.0010	0.0009	0.0009	0.0009	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0007	0.0007
-3.0	0.0013	0.0013	0.0013	0.0012	0.0012	0.0011	0.0011	0.0011	0.0010	0.0010
-2.9	0.0019	0.0018	0.0018	0.0017	0.0016	0.0016	0.0015	0.0015	0.0014	0.0014
-2.8	0.0026	0.0025	0.0024	0.0023	0.0023	0.0022	0.0021	0.0021	0.0020	0.0019
-2.7	0.0035	0.0034	0.0033	0.0032	0.0031	0.0030	0.0029	0.0028	0.0027	0.0026
-2.6	0.0047	0.0045	0.0044	0.0043	0.0041	0.0040	0.0039	0.0038	0.0037	0.0036
-2.5	0.0062	0.0060	0.0059	0.0057	0.0055	0.0054	0.0052	0.0051	0.0049	0.0048
-2.4	0.0082	0.0080	0.0078	0.0075	0.0073	0.0071	0.0069	0.0068	0.0066	0.0064
-2.3	0.0107	0.0104	0.0102	0.0099	0.0096	0.0094	0.0091	0.0089	0.0087	0.0084
-2.2	0.0139	0.0136	0.0132	0.0129	0.0125	0.0122	0.0119	0.0116	0.0113	0.0110
-2.1	0.0179	0.0174	0.0170	0.0166	0.0162	0.0158	0.0154	0.0150	0.0146	0.0143
-2.0	0.0228	0.0222	0.0217	0.0212	0.0207	0.0202	0.0197	0.0192	0.0188	0.0183
-1.9	0.0287	0.0281	0.0274	0.0268	0.0262	0.0256	0.0250	0.0244	0.0239	0.0233
-1.8	0.0359	0.0351	0.0344	0.0336	0.0329	0.0322	0.0314	0.0307	0.0301	0.0294
-1.7	0.0446	0.0436	0.0427	0.0418	0.0409	0.0401	0.0392	0.0384	0.0375	0.0367
-1.6	0.0548	0.0537	0.0526	0.0516	0.0505	0.0495	0.0485	0.0475	0.0465	0.0455
-1.5	0.0668	0.0655	0.0643	0.0630	0.0618	0.0606	0.0594	0.0582	0.0571	0.0559
-1.4	0.0808	0.0793	0.0778	0.0764	0.0749	0.0735	0.0721	0.0708	0.0694	0.0681
-1.3	0.0968	0.0951	0.0934	0.0918	0.0901	0.0885	0.0869	0.0853	0.0838	0.0823
-1.2	0.1151	0.1131	0.1112	0.1093	0.1075	0.1056	0.1038	0.1020	0.1003	0.0985
-1.1	0.1357	0.1335	0.1314	0.1292	0.1271	0.1251	0.1230	0.1210	0.1190	0.1170
-1.0	0.1587	0.1562	0.1539	0.1515	0.1492	0.1469	0.1446	0.1423	0.1401	0.1379
-0.9	0.1841	0.1814	0.1788	0.1762	0.1736	0.1711	0.1685	0.1660	0.1635	0.1611
-0.8	0.2119	0.2090	0.2061	0.2033	0.2005	0.1977	0.1949	0.1922	0.1894	0.1867
-0.7	0.2420	0.2389	0.2358	0.2327	0.2296	0.2266	0.2236	0.2206	0.2177	0.2148
-0.6	0.2743	0.2709	0.2676	0.2643	0.2611	0.2578	0.2546	0.2514	0.2483	0.2451
-0.5	0.3085	0.3050	0.3015	0.2981	0.2946	0.2912	0.2877	0.2843	0.2810	0.2776
-0.4	0.3446	0.3409	0.3372	0.3336	0.3300	0.3264	0.3228	0.3192	0.3156	0.3121
-0.3	0.3821	0.3783	0.3745	0.3707	0.3669	0.3632	0.3594	0.3557	0.3520	0.3483
-0.2	0.4207	0.4168	0.4129	0.4090	0.4052	0.4013	0.3974	0.3936	0.3897	0.3859
-0.1	0.4602	0.4562	0.4522	0.4483	0.4443	0.4404	0.4364	0.4325	0.4286	0.4247
0.0	0.5000	0.4960	0.4920	0.4880	0.4840	0.4801	0.4761	0.4721	0.4681	0.4641

Приложение 5. Таблица t-распределения.

(значение t-статистики: в строках степени свободы, в столбцах значения вероятности "хвоста" распределения,. В ячейках таблицы значение t-статистики)

	Вероятность *p*											
df	**0.25**	**0.2**	**0.15**	**0.1**	**0.05**	**0.025**	**0.02**	**0.01**	**0.005**	**0.0025**	**0.001**	**0.0005**
1	1.00	1.38	1.96	3.08	6.31	12.71	15.89	31.82	63.66	127.32	318.31	636.62
2	0.82	1.06	1.39	1.89	2.92	4.30	4.85	6.96	9.93	14.09	22.33	31.60
3	0.77	0.98	1.25	1.64	2.35	3.18	3.48	4.54	5.84	7.45	10.21	12.92
4	0.74	0.94	1.19	1.53	2.13	2.78	3.00	3.75	4.60	5.60	7.17	8.61
5	0.73	0.92	1.16	1.48	2.02	2.57	2.76	3.37	4.03	4.77	5.89	6.87
6	0.72	0.91	1.13	1.44	1.94	2.45	2.61	3.14	3.71	4.32	5.21	5.96
7	0.71	0.90	1.12	1.42	1.90	2.37	2.52	3.00	3.50	4.03	4.79	5.41
8	0.71	0.89	1.11	1.40	1.86	2.31	2.45	2.90	3.35	3.83	4.50	5.04
9	0.70	0.88	1.10	1.38	1.83	2.26	2.40	2.82	3.25	3.69	4.30	4.78
10	0.70	0.88	1.09	1.37	1.81	2.23	2.36	2.76	3.17	3.58	4.14	4.59
11	0.70	0.88	1.09	1.36	1.80	2.20	2.33	2.72	3.11	3.50	4.03	4.44
12	0.69	0.87	1.08	1.36	1.78	2.18	2.30	2.68	3.06	3.43	3.93	4.32
13	0.69	0.87	1.08	1.35	1.77	2.16	2.28	2.65	3.01	3.37	3.85	4.22
14	0.69	0.87	1.08	1.34	1.76	2.15	2.26	2.62	2.98	3.33	3.79	4.14
15	0.69	0.87	1.07	1.34	1.75	2.13	2.25	2.60	2.95	3.29	3.73	4.07
16	0.69	0.86	1.07	1.34	1.75	2.12	2.23	2.58	2.92	3.25	3.69	4.01
17	0.69	0.86	1.07	1.33	1.74	2.11	2.22	2.57	2.90	3.22	3.65	3.96
18	0.69	0.86	1.07	1.33	1.73	2.10	2.21	2.55	2.88	3.20	3.61	3.92
19	0.69	0.86	1.07	1.33	1.73	2.09	2.21	2.54	2.86	3.17	3.58	3.88
20	0.69	0.86	1.06	1.32	1.73	2.09	2.20	2.53	2.85	3.15	3.55	3.85
21	0.69	0.86	1.06	1.32	1.72	2.08	2.19	2.52	2.83	3.13	3.53	3.82
22	0.69	0.86	1.06	1.32	1.72	2.07	2.18	2.51	2.82	3.12	3.50	3.79
23	0.69	0.86	1.06	1.32	1.71	2.07	2.18	2.50	2.81	3.10	3.48	3.77
24	0.69	0.86	1.06	1.32	1.71	2.06	2.17	2.49	2.80	3.09	3.47	3.75
25	0.68	0.86	1.06	1.32	1.71	2.06	2.17	2.48	2.79	3.08	3.45	3.73
26	0.68	0.86	1.06	1.31	1.71	2.06	2.16	2.48	2.78	3.07	3.44	3.71
27	0.68	0.85	1.06	1.31	1.70	2.05	2.16	2.47	2.77	3.06	3.42	3.69
28	0.68	0.85	1.06	1.31	1.70	2.05	2.15	2.47	2.76	3.05	3.41	3.67
29	0.68	0.85	1.05	1.31	1.70	2.04	2.15	2.46	2.76	3.04	3.40	3.66
30	0.68	0.85	1.05	1.31	1.70	2.04	2.15	2.46	2.75	3.03	3.38	3.65
40	0.68	0.85	1.05	1.30	1.68	2.02	2.12	2.42	2.70	2.97	3.31	3.55
50	0.68	0.85	1.05	1.30	1.68	2.01	2.11	2.40	2.68	2.94	3.26	3.50
100	0.68	0.84	1.04	1.29	1.66	1.98	2.08	2.36	2.63	2.87	3.17	3.39
1000	0.68	0.84	1.04	1.28	1.65	1.96	2.06	2.33	2.58	2.81	3.10	3.30

Шифр_____ Рабочее место_____

ЛИСТ ОТВЕТОВ

на задания практического тура заключительного этапа
XLI Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2024-25 уч. год.

11 класс. БИОСИСТЕМАТИКА И ЭКОЛОГИЯ

Задание 1.1 [12 баллов]
Номера определительных тез (через запятую): _____.

Задание 1.2 [10 баллов]

Личинка	**А**	**Б**	**В**	**Г**	**Д**
Тип местообитания (1-5)					

Задание 1.3 [2 балла]
Тип местообитания (1-5): _____.

Задание 2.1 [4 балла]
Датировка древнейшей находки подёнок (1-10): _____.
Континент обитания древнейших подёнок (1-9): _____.

Задание 2.2 [10 баллов]

Утверждение	**А**	**Б**	**В**	**Г**	**Д**
Верно					
Неверно					

Задание 3.1 [4 балла]
Статистический тест (номер 1-6 из *Приложения 3*): _____.

Задание 3.2 [6 баллов]

Сравнение	Значение статистики (z) (**округление до второго знака после запятой**)	Вероятность	Отвергаем нулевую гипотезу **(да/нет)**
С фитофагами			
С хищниками			

Задание 3.3 [2 балла]
Тип питания подёнки: _____.

Шифр _____ Рабочее место _____ Итого: _____

ЛИСТ ОТВЕТОВ БИОМЕДИЦИНА

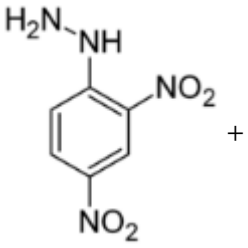
1.1 OD_{525} пробы X после инкубации_____, OD_{525} в контроле_____ (8 б)

1.2 Активность АЛТ _____ , измеряется в _____, активность_____ нормы (4 б)

1.3 Реакция:

Значение АЛТ состоит в _____ (4 б)

1.4



+ ⟶ (2 б)

1.5 _____

_____

_____ (2 б)

2.1 Концентрация глюкозы_____ мМ, что _____ (3 б)

2.2 Реакция: (4 б)

⟶

2.3 Расчет: (3 б)

3.1 1_____ 2_____ 3_____ 4_____ 5_____ (5 б)

3.2 I_____ II_____ III_____ IV_____ V_____ (5 б)

4.1 Координаты: Н_____ Э_____ Б_____ М_____ Л_____ (5 б)

4.2 нейтрофилы_____ эозинофилы____ базофилы____ моноциты____ лимфоциты____(2 б)

4.3 В квадрате В3 находится _____, с учетом всего перечисленного диагноз пациента X - _____

_____ (3 б)

ЗАДАНИЯ
практического тура заключительного этапа
XLI Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2024-25 год.
11 класс. МИКРОБИОЛОГИЯ
50 баллов

Водоросли дуреют с этой прикормки.
мудрость из интернета

Загрязнение черноморского побережья мазутом привело к неожиданному и необъяснимому побочному эффекту: избыточному разрастанию мутантного штамма фототрофного микроорганизма (**Тест-культура**), и это грозит привести к «цветению» прибрежных водоёмов. В качестве мер биологической борьбы было предложено использовать 4 разные бактериальные культуры, образующие эффективные для данного случая антибиотики (далее — **Продуценты**). Вам предстоит определить самого лучшего продуцента.

Цель работы: Выбрать самый эффективный антибиотик и его продуцента.

Задачи:

1) Определить минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) 4-х антибиотиков и выбрать из них самый эффективный.
2) Определить систематическую принадлежность продуцента выбранного антибиотика.

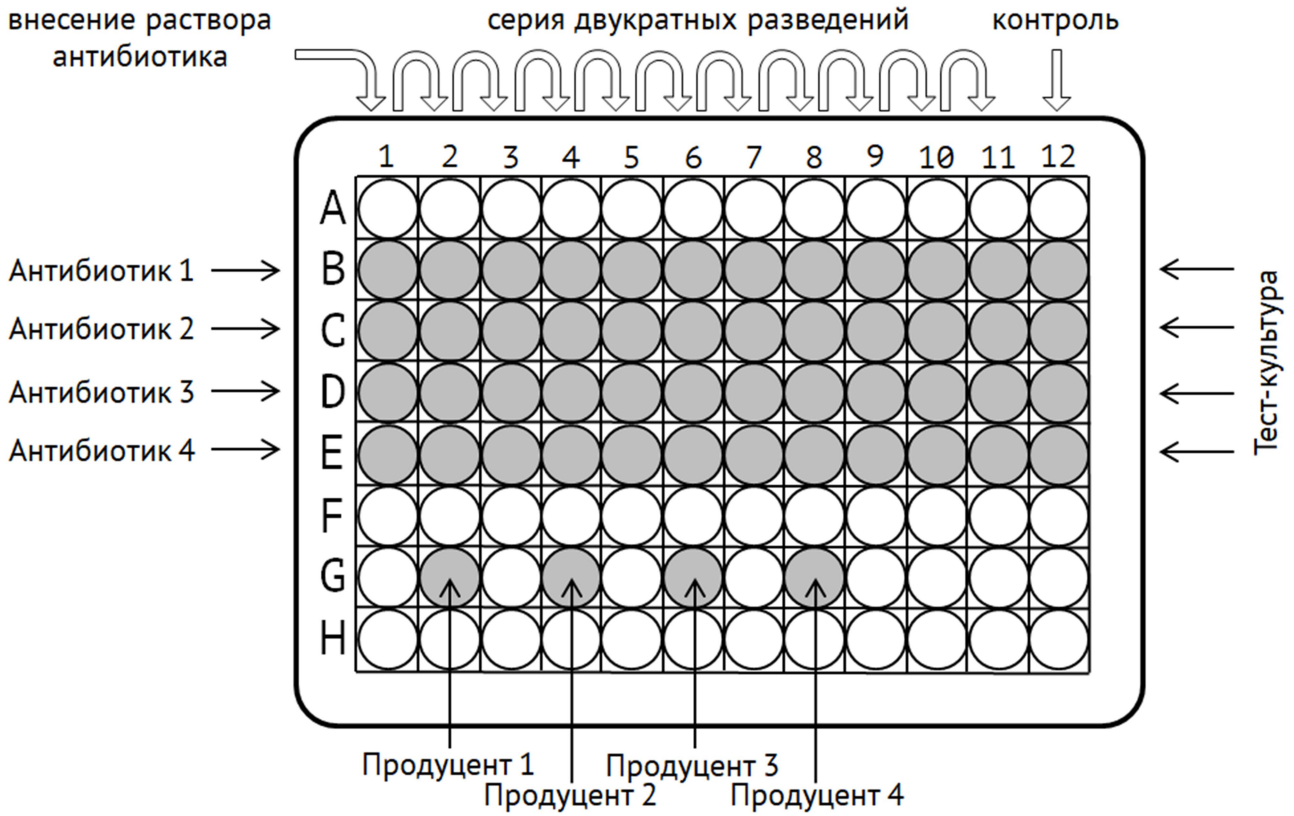
Оборудование и материалы: 96-луночный планшет со всеми используемыми в задаче культурами микроорганизмов, микроскоп, предметные стекла, красители генциан фиолетовый и фуксин, раствор Люголя, спирт, кусочки фильтровальной бумаги, пипетки Пастера, спиртовка, пинцет.

Планшет

В вашем распоряжении имеется 96-луночный планшет, который использовали для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) четырёх антибиотиков (обозначены как **Антибиотики 1–4**). Планшет также содержит культуры продуцентов этих антибиотиков (обозначены как **Продуценты 1–4**, соответственно). Планшет делится на 8 горизонтальных рядов («ряды») и 12 вертикальных рядов («столбцы»). Схема заполнения планшета приведена на следующей странице.

МИК — самая низкая концентрация противомикробного препарата, которая приводит к полному подавлению видимого роста культуры тестируемого микроорганизма. **В данной задаче под полным подавлением роста будет подразумеваться полное отсутствие клеток в образце.** Для определения МИК были приготовлены растворы концентрацией 200 мкг/мл каждого антибиотика в питательной среде для фототрофов. Растворы внесли в ячейки B1–E1 планшета в количестве 100 мкл (в соответствии со схемой). В прочие ячейки рядов B–E добавили 50 мкл питательной среды без антибиотика. После этого последовательно переносили 50 мкл содержимого каждой ячейки слева направо, каждый раз перемешивая — таким образом, получена серия последовательных двукратных разведений антибиотика. В последний столбец 12 ничего не переносили, это положительный контроль на рост **Тест-культуры**. Наконец, в каждую из заполненных ячеек добавили 50 мкл сильно разбавленной **Тест-культуры** в качестве посевного

материала. Закрытый планшет инкубировали при солнечном свете до появления хорошо заметного роста как минимум в контрольном столбце 12.



В ячейки G2, G4, G6 и G8 планшета помещены жидкие культуры **Продуцентов**, из которых были получены **Антибиотики 1–4**. Они обозначены теми же цифрами.

Ход работы

Задание 1. Определение самого эффективного антибиотика и его МИК (макс. 16 баллов).

1) Определите приблизительно для каждого антибиотика максимальное разведение, при котором отсутствует видимый рост. Исходя из этого, выберите наиболее эффективный антибиотик. Внесите его номер в лист ответов.
2) **Поместите планшет на предметный столик микроскопа**. Используя объектив x4 или x10, рассмотрите внимательно ряд ячеек выбранного антибиотика, чтобы уточнить определение максимального разведения, при котором полностью отсутствует рост. Отметьте это разведение в листе ответов, перечеркнув соответствующую ячейку крестиком.
3) Используя информацию о протоколе подготовки планшета (см. предыдущую страницу), рассчитайте МИК выбранного антибиотика и внесите в лист ответов.

Задание 2. Окрашивание по Граму и микроскопирование (макс. 18 баллов).

1) Приготовьте мазки **Тест-культуры** (*возьмите из любой ячейки, где наблюдается устойчивый рост*) и выбранного **Продуцента** (*соответствующая ячейка ряда G, по схеме*). Для этого нанесите

пипеткой Пастера на предметное стекло каплю культуры и распределите тонким слоем (можно использовать одно стекло для двух мазков). Бережно высушите мазок и затем зафиксируйте в пламени горелки.

2) На фиксированный мазок нанесите несколько капель красителя генциан фиолетового и выдерживайте 2 минуты. Слейте краситель, не промывая.

3) Нанесите несколько капель реактива Люголя и выдерживайте 1 минуту. Затем промойте препарат водой.

4) Нанесите этиловый спирт, выдерживайте 30 секунд, покачивая препарат, слейте. Затем промойте водой.

5) Нанесите несколько капель красителя фуксина, выдерживайте 1 минуту, промойте водой.

6) Высушите (можно дополнительно применять фильтровальную бумагу).

7) Сфокусируйте микроскоп на препарате, используя объективы малого увеличения. Нанесите на мазок каплю иммерсионного масла и просмотрите препарат с объективом x100.

8) Зарисуйте препараты в листе ответов, указав на рисунке увеличение. Подпишите морфологию наблюдаемых микроорганизмов. При наличии, укажите и подпишите дополнительные элементы: особые структуры, характер группировки или ветвления, и т.п. Укажите результат окрашивания по Граму каждой культуры.

Обратите внимание! В данной работе использованы только чистые культуры. При наличии различных микроорганизмов в препарате (например, вследствие загрязнения) учитывайте самый многочисленный.

Задание 3. Анализ наблюдений (макс. 16 баллов).

1) Выберите группу, к которой относится **Тест-культура**, из вариантов, указанных на листе ответа.

2) Ниже приведена таблица с перечнем некоторых известных антибиотиков, их типичных мишеней и продуцентов. Она включает и выбранный **Антибиотик**. Используя таблицу, запишите в листе ответа видовую принадлежность выбранного **Продуцента** и какой антибиотик он образует. Выберите характер действия антибиотика из вариантов, указанных на листе ответа.

Антибиотик	**Мишень**	**Подавляет Гр+ бактерии**	**Подавляет Гр- бактерии**	**Продуцент**
Азтреонам	клеточная стенка	плохо	хорошо	*Chromobacterium violaceum*
Гентамицин	30S суб. рибосомы	умеренно	хорошо	*Micromonospora purpurea*
Грамицидин D	мембрана	хорошо	плохо	*Bacillus brevis*
Мупироцин	синтез тРНК	хорошо	плохо	*Pseudomonas fluorescens*
Низин	мембрана	хорошо	плохо	*Lactococcus lactis*
Нокардицин A	клеточная стенка	плохо	хорошо	*Nocardia uniformis*
Полимиксин B	мембрана	плохо	хорошо	*Bacillus polymyxa*
Тиенамицин	клеточная стенка	хорошо	хорошо	*Streptomyces cattleya*
Тобрамицин	30S суб. рибосомы	умеренно	хорошо	*Streptomyces tenebrarius*
Эритромицин	50S суб. рибосомы	хорошо	хорошо	*Streptomyces erythreus*

ЛИСТ ОТВЕТОВ **Страница 1** Шифр _____

кабинет МИКРОБИОЛОГИЯ, 2025 год Номер рабочего места___

Итого баллов _____

Задание 1. ВЫБОР АНТИБИОТИКА (всего макс. 16 баллов)

Разведение (*отметьте нужное крестиком* ☒ , *5 баллов*)

x2	x4	x8	x16	x32	x64	x128	x256	x512	x1024

МИК _____ мкг/мл *10 баллов*

Антибиотик № ____ *1 балл*

Задание 2. РИСУНОК ПРЕПАРАТОВ (всего макс. 18 баллов)

Укажите увеличение, отметьте морфологию клеток, наблюдаемые особые черты: структуры, характер группировки или ветвления клеток

Тест-культура, *5 баллов*

Увеличение _____

Окрашивание по Граму: _____ *4 балла*

Продуцент, *5 баллов*

Увеличение _____

Окрашивание по Граму: _____ *4 балла*

Задание 3. АНАЛИЗ (всего макс. 16 баллов)

ТЕСТ-КУЛЬТУРА

Выберите группу, к которой относится Тест-культура:

Зелёные бактерии
Зелёные водоросли
Бурые водоросли
Золотистые водоросли
Красные водоросли
Цианобактерии
Пурпурные бактерии
Гелиобактерии
Галоархеи
Эритробактерии

Ответ:

_____

4 балла

(продолжение на 2 странице)

ПРОДУЦЕНТ

Вид микроорганизма: _____

4 балла

Название антибиотика: _____

4 балла

Выберите характер действия антибиотика:

Цитостатическое
Цитоцидное
Цитопролиферирующее
Цитопикнотическое
Цитоактивирующее
Цитоагглютинирующее
Цитолитическое
Цитофагическое

Ответ: _____

4 балла

Задания практического тура заключительного этапа
XLI Всероссийской олимпиады школьников по биологии.
2024-25 уч. год. 11 класс.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ. Максимум 50 баллов.

ВВЕДЕНИЕ

В 1962 году Нобелевский лауреат Осаму Шимомура открыл зеленый флуоресцентный белок (GFP) из цитозоля клеток морской медузы *Aequorea victoria*. GFP представляет собой глобулярный полипептид, состоящий из 11 β-тяжей, уложенных в форму бочонка. В центре данного бочонка расположена искаженная α-спираль, в состав которой входит хромофор, отвечающий за способность белка поглощать и испускать кванты света в видимой области спектра. В конце XX века в результате развития методов молекулярного клонирования GFP стал платформой для широкого круга аналитических технологий. В частности, большую популярность обрели генетически кодируемые сенсоры, визуализирующие кислотность среды (например, желтый SypHer3s или зеленый pHluorin). В основе их функционирования лежит способность хромофора выступать в качестве кислоты, при этом равновесие между протонированной и депротонированной формами, которые можно различить оптически, зависит от внешнего pH.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

В рамках экспериментальной работы вы будете очищать препарат SypHer3s при помощи металл-аффинной хроматографии и исследовать зависимость его сигнала от pH.

Шаг 1. В качестве колонки вы будете использовать тонкий инсулиновый шприц. Поскольку вы будете наполнять его аффинной смолой, чтобы она не вытекала, вам следует поместить на дно шприца кружок фильтровальной бумаги (возьмите его из эппендорфа “ФБ”; эппендорф – это маленькая пластиковая пробирка). Бумага должна максимально плотно прилегать ко дну. Поместите кружок в шприц, после чего пододвиньте его поршнем ко дну. Чтобы выровнять положение кружка используйте зубочистку (вводите ее через отверстие для иглы).

Шаг 2. Закрепите шприц в штативе при помощи лапки в вертикальном положении. Установите под шприц пластиковый стаканчик для слива. Внесите в шприц весь объем аффинной смолы (эппендорф “Ni”), перед этим размешав ее до однородной суспензии пипетированием. **Пока смола оседает на дно шприца, продолжайте чтение задания и отвечайте на теоретические вопросы. Если в шприце над смолой образовался пузырь воздуха, мешающий току жидкости, вы можете убрать его при помощи зубочистки. Не стучите пальцем по шприцу! Не дотрагивайтесь зубочисткой до влажной фильтровальной бумаги!** Дождитесь, пока плотная фракция смолы осядет, и буфер протечет через шприц. Над смолой практически не должно остаться жидкости. Полное протекание буфера через колонку занимает примерно 2 минуты. Объем осевшей плотной фракции смолы должен составить около 80 мкл. Если вы не уверены в том, что корректно положили фильтровальную бумагу, вы можете собирать первые капли в эппендорф “Ni”, чтобы не потерять смолу.

Шаг 3. Принцип металл-аффинной хроматографии основан на том, что в состав смолы входят карбоксильные группы, удерживающие ионы Ni. Данные ионы способны прочно связывать полигистидиновые последовательности в белках, называемые His-тагами (**Рис. 1А**). Сначала на колонку наносят растворенные белки из лизата клеток, затем через смолу пропускают промывочный буфер с целью избавиться от примесных соединений, после чего целевой белок смывают с частиц смолы элюирующим буфером. При корректном протоколе аффинную смолу можно использовать многократно. В эппендорфе “Lys” находится лизат бактериальных клеток, содержащий (His-таг)-SypHer3s и красный флуоресцентный белок mKate (позволяет смотреть за движением нецелевых примесей в смоле). Медленно внесите пипеткой

весь объем лизата в шприц. Лучше делать это по его стенке, чтобы не повредить слой из осевшей смолы. Дождитесь, пока весь объем лизата войдет в смолу.

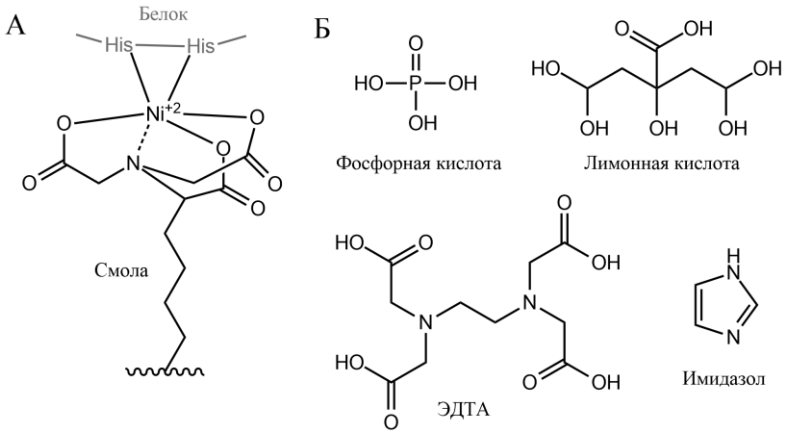


Рисунок 1. Строение аффинной смолы (А) и возможные компоненты для буферов (Б).

Шаг 4. Вам необходимо подготовить 500 мкл промывочного буфера. Для этого вы можете воспользоваться четырьмя компонентами (**Рис. 1Б**): 1) 100 мМ натрий фосфатный буфер, pH 7.4 (эппендорф “NaP”); 2) 100 мМ цитратный буфер, pH 2.1 (эппендорф “Citr”); 3) 5-кратный раствор ЭДТА (часто используется при выделении белков для предотвращения активности протеаз и окислительных реакций, эппендорф “EDTA”); 4) 20-кратный раствор имидазола (эппендорф “Im”). Вам также необходимо приготовить 250 мкл элюирующего буфера, выбрав необходимые компоненты из списка выше. Используйте для этого чистые эппендорфы.

Вопрос 1 (4 балла). Укажите в микролитрах (мкл) объемы компонентов, которые вы будете использовать для приготовления промывочного и элюирующего буферов. Если какой-либо компонент не задействован – укажите в ячейке “0”. Числа округлите до целых.

Вопрос 2 (2 балла). Для каждого компонента промывочного буфера, который вы выбрали, напишите, почему вы приняли такое решение.

Вопрос 3 (2 балла). Для каждого компонента элюирующего буфера, который вы выбрали, напишите, почему вы приняли такое решение**.**

Шаг 5. Внесите 250 мкл промывочного буфера в шприц. Дождитесь, пока буфер протечет через колонку. Если примесные белки ушли не до конца, вы можете внести еще промывочный буфер. Часть примесных белков может осесть на фильтровальной бумаге – это нормально.

Вопрос 4 (7 баллов). Когда на колонке будет четко видно разделение зон белков, пригласите члена жюри, чтобы он произвел оценку вашего результата. Для этого молча поднимите руку. Чтобы лучше рассмотреть цветные зоны белков на колонке, можете воспользоваться белым листом бумаги.

Шаг 6. После промывки внесите 250 мкл элюирующего буфера в шприц. Когда SypHer3s начнет сходить с колонки, соберите препарат белка (100-120 мкл) в чистый эппендорф. В ваш образец не должен попасть примесный белок mKate – не собирайте его.

Шаг 7. Теперь вам предстоит установить зависимость сигнала SypHer3s от кислотности среды. Для этого следует приготовить стандартный ряд pH-буферов (от 6.0 до 7.4). Требуемый объем каждого буфера – 100 мкл. Для приготовления стандартного ряда вам доступны два исходных раствора – NaH_2PO_4 и Na_2HPO_4, с концентрацией каждого 100 мМ (находятся в эппендорфах “H_2” и “H_1”, соответственно). Для расчетов воспользуйтесь уравнением Гендерсона-Хассельбаха:

$$pH = pKa + log_{10}(\frac{Cосн}{Cкисл}),$$

где $C_{ОСН}$ и $C_{КИСЛ}$ – молярные концентрации основания и кислоты в буферном растворе. В качестве значения pKa используйте 6.8.

Вопрос 5 (4 балла). Заполните таблицу, указав необходимые объемы NaH_2PO_4 и Na_2HPO_4 для приготовления каждого из буферов. Требуемый pH каждого буфера обозначен в первой строке таблицы. Числа округлите до целых. Далее приготовьте буферы, используя полученные значения. Готовьте буферы в лунках стрипа (8 черных пробирок, соединенных вместе). У стрипа есть более прямоугольный и более закругленный края. Вносите буферы последовательно, так, чтобы раствор с самым низким значением pH оказался ближе к прямоугольному краю.

Шаг 8. Добавьте по 10 мкл очищенного вами белка SypHer3s в каждую из лунок, перемешайте образец пипетированием.

Вопрос 6 (8 баллов). Укажите в листе ответов номер стрипа (подписан сбоку). Поднимите руку – к вам подойдет член жюри и заберет ваш стрип на измерение. После измерения ваши образцы будут оценены.

Вопрос 7 (2 балла). При четком следовании протоколу, вы должны получить результаты как в таблице ниже. В ячейках указаны интенсивности флуоресценции SypHer3s в каждом из буферных растворов при длинах волн возбуждающего света 420 и 490 нм (Ex420 и Ex490 в условных единицах). Рассчитайте отношение интенсивности флуоресценции при длине волны 490 нм к интенсивности при длине волны 420 нм (Ex490/Ex420). Числа округлите до сотых.

pH	**6.0**	**6.2**	**6.4**	**6.6**	**6.8**	**7.0**	**7.2**	**7.4**
Ex420	27221	23958	38868	34928	21687	21267	20308	21258
Ex490	6395	6628	15894	18010	14631	19196	25225	34945

Вопрос 8 (4 балла). На разлинованной области в листе ответов постройте график зависимости рассчитанного вами отношения интенсивностей флуоресценции от pH. Ваш график должен занимать все отведенное пространство – выберите самостоятельно подходящую цену деления. Подпишите оси. Обе оси могут не выходить из нуля.

Вопрос 9 (6 баллов). В таблице показаны значения Ex490/Ex420 для SypHer3s в нескольких компартментах клетки. Данные компартменты образуют «путь», по которому движется синтезируемый в клетке белок, направляющийся в лизосому. Для таких измерений использовали специальные производные SypHer3s, которые содержали аминокислотные последовательности, направляющие данный сенсор в различные компартменты. Используя приведенные буквенные коды (А-Г), укажите в листе ответов, какому компартменту соответствует каждое из измерений (список компартментов избыточный). В тех случаях, где это возможно, определите конкретное значение pH (в остальных случаях перечеркните поля крестом). Учтите, что согласно современным представлениям, активность АТФаз V-типа возрастает при движении по компартментам секреторного пути. Для ответа на вопрос воспользуйтесь полученной ранее калибровочной кривой.

Компартмент	А	Б	В	Г
Ex490/Ex420	0.19	0.59	1.21	0.25

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

В 2005 году вышла статья, где авторы решили исследовать некоторые особенности синаптической передачи в культурах трансгенных нейронов. Клетки содержали pH-сенсор pHluorin в люмене везикул, заякоренный при помощи трансмембранного домена (**Рис. 2А**). Исследователям также была известна зависимость сигнала индикатора от pH (**Рис. 2Б**). Обратите внимание, что она указана не в абсолютных, а в относительных единицах, где за 1 принята максимальная интенсивность свечения. Сначала ученые возбуждали нейроны при помощи импульсной электростимуляции и при помощи микроскопии наблюдали за изменением флуоресценции в клетках, которое называют «ответом» (**Рис. 2В**). Затем эксперимент повторили в присутствии бафиломицина. Значения флуоресценции указаны в условных единицах.

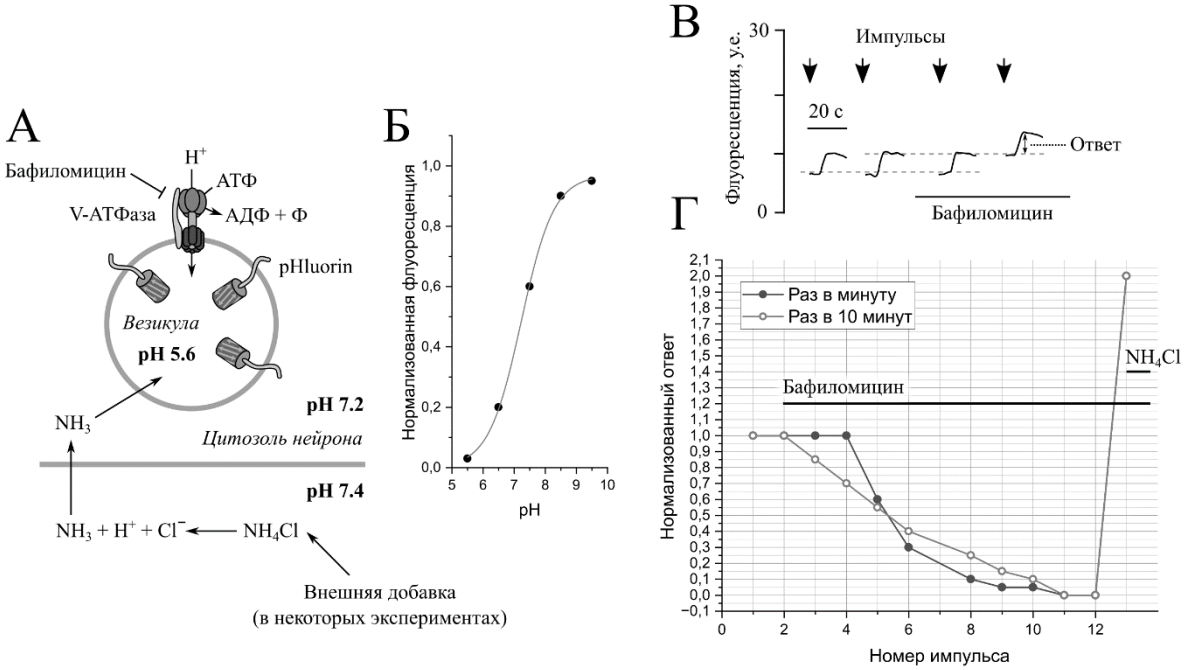


Рисунок 2. Эксперименты с нейрональными культурами.

Вопрос 10 (2 балла). Почему в отсутствие бафиломицина следующий ответ начинается с того же уровня флуоресценции, что и предыдущий?

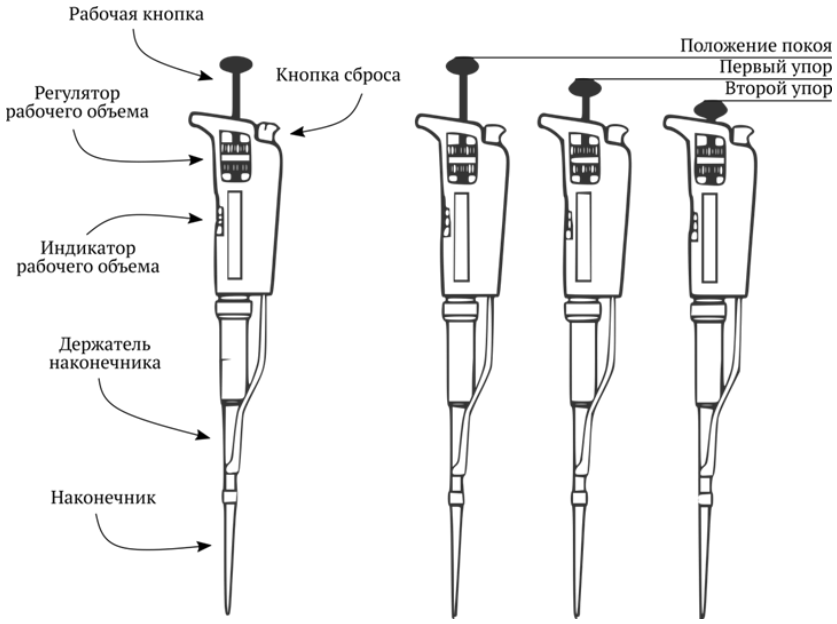
Вопрос 11 (2 балла). Почему в присутствии бафиломицина следующий ответ начинается с того уровня флуоресценции, на котором завершился предыдущий ответ?

Предполагают, что в нейронах присутствуют три субпопуляции везикул с нейромедиаторами: 1) связанные с транс-SNARE-комплексами; 2) не связанные с транс-SNARE-комплексами, но расположенные рядом с цитоплазматической мембраной; 3) расположенные вдали от цитоплазматической мембраны. Чтобы изучить разницу в их поведении ученые повторили описанный эксперимент в присутствии бафиломицина, но с большим количеством импульсов (**Рис. 2Г**). В одном случае промежутки между импульсами составляли 1 минуту, в другом – 10 минут. Авторы работы убедились, что после всех импульсов возбуждаемые нейроны передавали информацию соседним клеткам. На графике указаны нормализованные ответы, при этом за 1 принят первоначальный ответ в отсутствие бафиломицина. В конце к клеткам добавляли NH_4Cl и смотрели за изменением флуоресценции без электростимуляции.

Вопрос 12 (4 балла). Объясните различия в динамике ответа при стимуляции раз в минуту и раз в 10 минут.

Вопрос 13 (3 балла). Почему добавление NH_4Cl приводит к интенсивному ответу несмотря на то, что электростимуляция перестает вызывать ответы?

ИНСТРУКЦИЯ ПО РАБОТЕ С АВТОМАТИЧЕСКОЙ ПИПЕТКОЙ



Для того чтобы перенести из сосуда А в сосуд Б требуемый объем жидкости необходимо выполнить следующую последовательность действий:

1. На регуляторе рабочего объема пипетки выставить необходимый объем при помощи индикатора. Не выходите за пределы рабочего диапазона!
2. Надеть наконечник на держатель наконечника.
3. Перевести рабочую кнопку в положение первого упора.
4. Погрузить конец наконечника в сосуд А.
5. Плавно отпустить рабочую кнопку в положение покоя. Пипетка наберет необходимый объем жидкости.
6. Извлечь наконечник из сосуда А.
7. Перенести наконечник в сосуд Б.
8. Плавно перевести рабочую кнопку в положение первого упора, и далее плавно дожать до второго упора. Пипетка выпустит весь объем набранной жидкости.
9. Извлечь наконечник из сосуда Б.
10. Отпустить рабочую кнопку в положение покоя.
11. Сбросить наконечник при помощи кнопки сброса.

Для пипетирования (перемешивания) образца выполнить пункты 1-7, после чего:

а. Плавно перевести рабочую кнопку в положение первого упора.
б. Плавно перевести рабочую кнопку в положение покоя.
в. Повторить шаги (а+б) 5-10 раз.
г. Плавно перевести рабочую кнопку в положение первого упора, и далее плавно дожать до второго упора. Пипетка выпустит весь объем набранной жидкости.
д. Извлечь наконечник из сосуда Б.
е. Перевести рабочую кнопку в положение покоя.
ж. Сбросить наконечник при помощи кнопки сброса.

Шифр _____ Рабочее место _____ Сумма баллов _____

ЛИСТ ОТВЕТОВ “МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ” (50 БАЛЛОВ)

Вопрос 1 (4 балла). Состав буферов для хроматографии.				
Буфер	Компонент (мкл)			
	100 мМ натрий-фосфатный буфер, pH 7.4	100 мМ цитратный буфер, pH 2.1	5-кратный сток ЭДТА	20-кратный сток имидазола
Промывочный				
Элюирующий				

Вопрос 2 (2 балла). Состав промывочного буфера.

Вопрос 3 (2 балла). Состав элюирующего буфера.

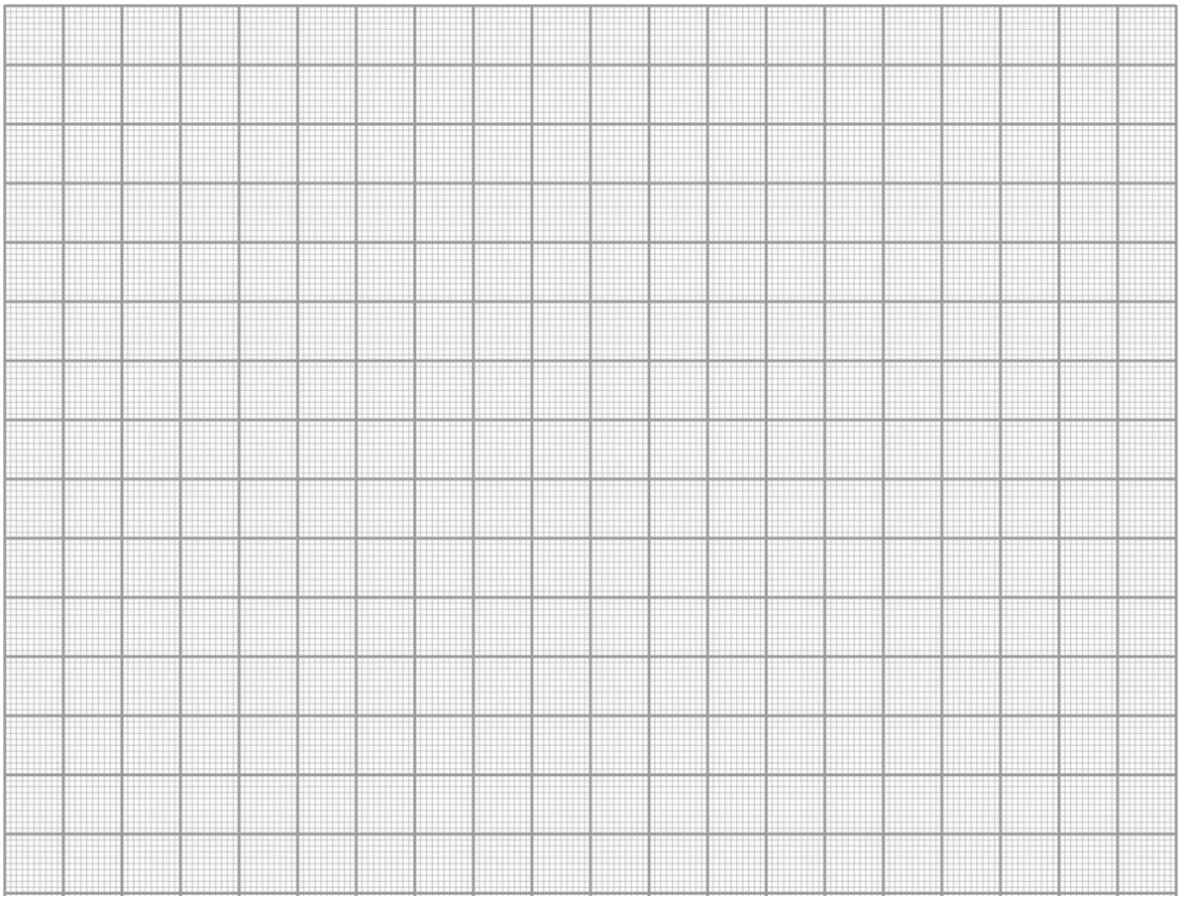
Вопрос 4 (7 баллов).	**Вопрос 6 (8 баллов).**	
Демонстрация разделения	Сдача стрипа	№
Отметку ставит член жюри	*Отметку ставит член жюри*	

Вопрос 5 (4 балла). Состав буферов для теста pH-зависимости.								
pH	**6.0**	**6.2**	**6.4**	**6.6**	**6.8**	**7.0**	**7.2**	**7.4**
v(NaH_2PO_4), мкл								
v(Na_2HPO_4), мкл								

Шифр _____ Рабочее место _____ Сумма баллов _____

Вопрос 7 (2 балла). Соотношение сигналов.								
pH	**6.0**	**6.2**	**6.4**	**6.6**	**6.8**	**7.0**	**7.2**	**7.4**
Ex490/Ex420								

Вопрос 8 (4 балла). Зависимость Ex490/Ex420 от pH.



Вопрос 9 (6 баллов). Измерение pH в компартментах.		
Компартмент	**Буква (А-Г)**	**pH**
Ядро (нуклеоплазма)		
Люмен ЭПР		
Пероксисома		
Лизосома		
Транс-цистерны Гольджи		
Цис-цистерны Гольджи		
Матрикс митохондрии		
Цитозоль		

Шифр _____ Рабочее место _____ Сумма баллов _____

Вопрос 10 (2 балла). Ответ без бафиломицина.

Вопрос 11 (2 балла). Ответ с бафиломицином.

Вопрос 12 (4 балла). Сравнение режимов стимуляции.

Вопрос 13 (3 балла). Добавка NH_4Cl.