

OLIMPIADA LA ȘTIINȚE PENTRU JUNIORI, ETAPA REPUBLICANĂ

20 mai 2018

PROBA PRACTICĂ (BIOLOGIA) (10,0 p.)

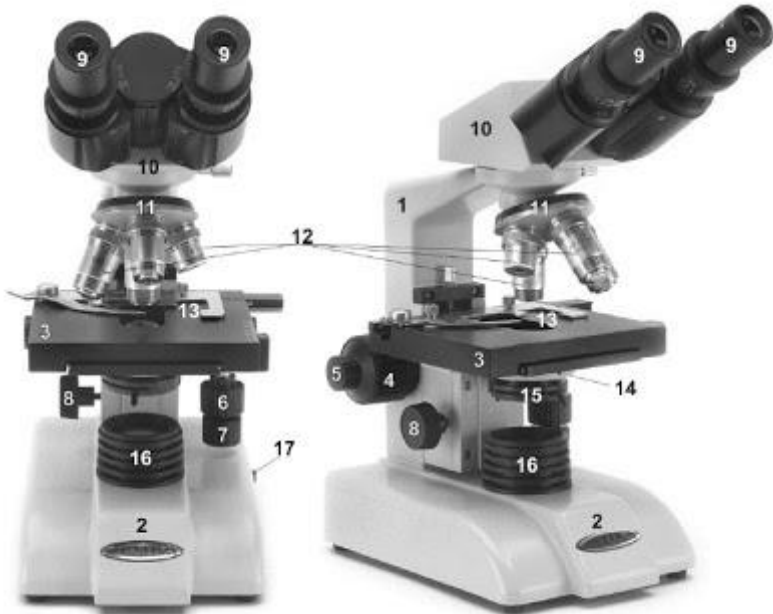
Analiza microscopică a microorganismelor

Citiți cu atenție instrucțiunile de lucru cu microscopul optic și protocolul. Dacă aveți întrebări sau anumite lucruri nu vă sunt clare, solicitați ajutorul asistentului de laborator înainte de a începe proba practică.

Instrucțiuni de lucru cu microscopul optic:

1. se conectează iluminarea sau se orientează lumina cu ajutorul oglinzii;
2. se rotește sistemul obiectiv și se aduce în axul optic obiectivul 10x sau 8x;
3. privind prin oculare se ridică sau se coboară condensorul pentru o iluminare optimă și corectă a preparatului. Dacă se dorește o iluminare mai bună, se ridică condensorul, iar dacă iluminarea este prea puternică se coboară condensorul. Cu cât obiectivul folosit este mai mare, cu atât va trebui ridicat mai mult condensorul pentru a avea iluminarea adecvată. Inițial, folosindu-se obiectivul de 10x este suficientă o poziție la 1 cm sub măsura;
4. lama cu preparatul biologic se așază pe măsura microscopului și se fixează cu ajutorul vafeților;
5. se privește **din lateral** și se coboară cu ajutorul macrovizei tubul microscopului cât se poate de mult și se oprește aproximativ la 1 cm de măsura;
6. apoi, se privește prin oculare, folosind tot macroviza, se ridică tubul microscopului până când se obține o imagine clară și colorată, iar pentru ajustarea clarității se utilizează microviza;
7. din acest moment se poate examina cu obiectivul de 20x/40x;
8. **Atenție!** Obiectivul de 20x/40x este folosit pentru examinarea preparatului doar dacă s-a obținut o imagine foarte clară cu obiectivul de 10x. După obținerea acestei imagini, **nu se folosește macroviza** (doar în cazuri rare se folosește cu mișcări foarte fine, milimetrice), deoarece **există riscul de a sparge lama !**
9. se aduce în axul optic obiectivul de 20x sau 40x;
10. imaginea se ajustează folosind doar microviza;
11. după utilizarea microscopului, se scoate lama de pe măsura, în ax se readuce obiectivul de 10x, se deconectează de la priză (dacă e necesar) și se acoperă cu husa de protecție.

Părțile componente ale microscopului optic:



1. Coloana microscopului
2. Piciorul / soclul
3. Măsura microscopului
4. Macroviza
5. Microviza
6. Șurub de deplasare antero-posterioară a măsuței/probei
7. Șurub de deplasare laterală a măsuței/probei
8. Șurubul condensorului (deplasări sus-jos)
9. Ocular
10. Port-ocular
11. Suport tip revolver pentru obiective
12. Obiective
13. Preparat biologic
14. Condensor
15. Diafragmă
16. Lampă neon

Protocol de lucru

A. Materiale și ustensile:

- Culturi de microorganisme (proba nr. 1 și proba nr. 2, cultura de *Nostoc* sp.),
- lame, lamele, hârtie de filtru, pipete Pasteur,
- apă distilată,
- soluție de acid acetic (CH₃COOH) 3%,
- reactiv Alcian Blue, pH 2.5 (0.33% (wt/wt) Alcian Blue în 3% (wt/wt) acid acetic).

B. Tehnica pregătirii preparatului temporar prin metoda "Picătură strivită"

1. Luați o lamă, înlăturați impuritățile cu ajutorul hârtiei de filtru.
2. Picurați pe lamă o picătură de soluție ce conține microorganisme și acoperiți cu o lamelă evitând formarea bulelor de aer sub aceasta. Soluția trebuie să umple tot spațiul de sub lamelă și să nu depășească limitele lamelei.

C. Mersul lucrării:

I. Pregătirea preparatului temporar din diferite culturi de microorganisme

1. Pregătiți un preparat temporar prin metoda Picătură strivită folosind cultura din **Proba nr.1**
2. **Examinați preparatul la microscopul optic** utilizând obiective cu diferită putere de mărire (inițial **10x**, după care **40x**).
3. Chemați asistentul pentru a verifica preparatul vizualizat la **obiectivul 40X** și a semna în caseta de la **punctul 3.1** din foaia de răspunsuri.
4. Reproduceți imaginea la microscop în spațiul rezervat la **p. 3.2** din foaia de răspunsuri.
5. Repetați pașii 1-4 pentru cultura de microorganisme din **Proba nr.2**.

N.B.! preparatul temporar se poate usca rapid. Dacă acest lucru s-a produs, pregătiți un preparat nou, sau adăugați o picătură de apă, absorbind-o sub lamelă.

6. Realizați **sarcina 3.3** din FOAIA DE RĂSPUNSURI.

II. Studiarea polizaharidelor extracelulare la cultura de *Nostoc* sp.

1. Pregătiți un preparat temporar prin metoda Picătură strivită din cultura de *Nostoc* sp.
2. Spălați celulele cu apă distilată. Pentru aceasta cu ajutorul pipetei Pasteur picurați **apă distilată** sub lamelă, pe latura dreaptă a acesteia, simultan absorbind cu hârtia apa pe latura stângă a lamelei.
3. Cu ajutorul unei pipete Pasteur noi adăugați suficient (**2-5 ml**) **acid acetic 3%** sub lamelă, pe latura dreapta a acesteia, substituind apa distilată. Pentru aceasta simultan cu adăugarea acidului acetic absorbiți apa cu ajutorul hârtiei de filtru, pe latura stângă a lamelei. Lăsați preparatul la temperatura camerei timp de **15-20 minute**.
4. Cu ajutorul unei pipete Pasteur noi adăugați cu picătura suficient (**0,5-1 ml**) **reactiv Alcian Blue** sub lamelă, pe latura dreapta a acesteia, substituind acidul acetic. Pentru aceasta simultan cu adăugarea reactivului absorbiți acidul acetic cu ajutorul hârtiei de filtru, pe latura stângă a lamelei. Lăsați preparatul la temperatura camerei timp de **7-10 minute**.
5. Spălați preparatul cu **apă distilată** pentru a înlătura excesul de reactiv Alcian Blue. Pentru aceasta adăugați apă distilată sub lamelă și absorbiți reactivul cu hârtia de filtru.
6. **Examinați preparatul la microscop** inițial cu obiectivul 10X după care 40X.
7. Chemați asistentul pentru a verifica preparatul și a semna în caseta de la **punctul 3.4** din foaia de răspunsuri.
8. Reproduceți imaginea văzută la microscop în spațiul corespunzător din foaia de răspunsuri la **p. 3.5, indicați pe desen polizaharidele extracelulare**.
9. Realizați **sarcina 3.6** din foaia de răspunsuri.

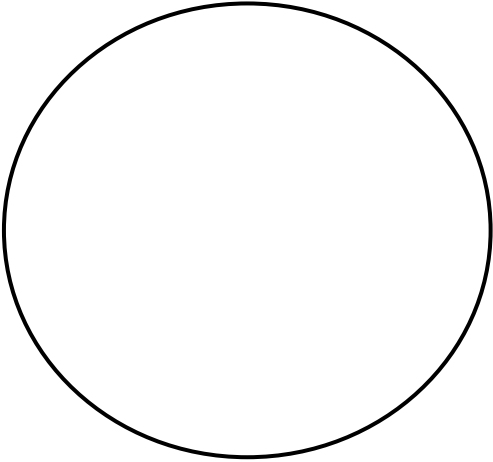
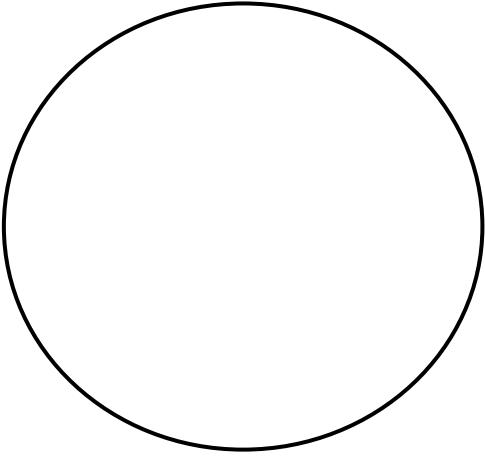
N.B. polizaharidele se colorează în albastru!

**FOAIE DE RĂSPUNSURI
PROBA PRACTICĂ (BIOLOGIA)**

3.1 Solicitați ca asistentul de laborator să verifice fiecare preparat examinat la obiectivul 40x și să semneze în spațiul de mai jos: 0,4p

Cultura de microorganisme	Semnătura asistentului	Puncte
<i>Proba nr.1</i>		0,2
<i>Proba nr.2</i>		0,2

3.2 Reproduceți, în spațiul rezervat, imaginea văzută la microscop la obiectivul 40x. 1p

 <p style="text-align: right;">0,5p</p>	 <p style="text-align: right;">0,5p</p>
Fig. 1 Proba nr.1 examinată la obiectivul 40x	Fig. 2 Proba nr.2 examinată la obiectivul 40x

3.3 Completați tabelul de mai jos:

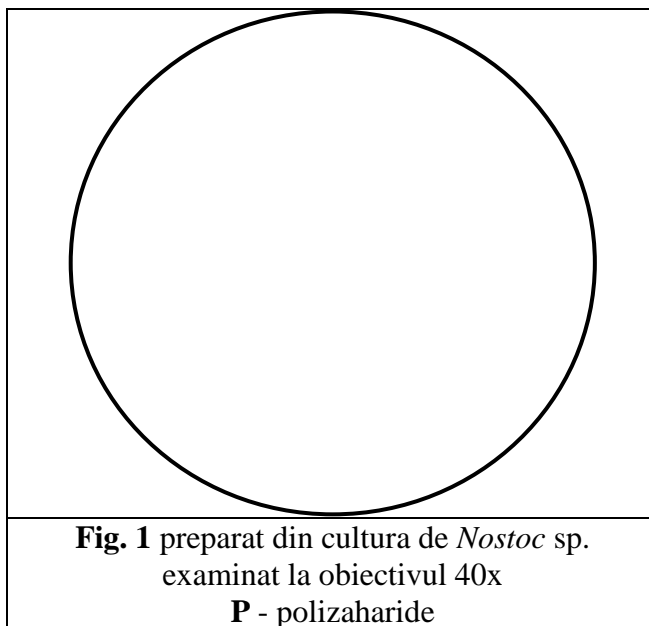
3,6p

Caracteristica	Cultura de microorganisme proba nr.1	de din	puncte	Cultura de microorganisme din proba nr.2	de din	puncte
Filumul			0,2			0,2
Specia			0,4			0,4
Organizarea celulară (procariote sau eucariote)			0,2			0,2
Prezența flagelilor (DA sau NU)			0,2			0,2
Prezența plastidelor (DA sau NU)			0,2			0,2
Mobilitate (DA sau NU)			0,2			0,2
Nutriție			0,2			0,2
Reproducerea sexuată (DA sau NU)			0,2			0,2

3.4 Solicitați ca asistentul de laborator să verifice preparatul din cultură de *Nostoc* sp. examinat la obiectivul 40X și să semneze în spațiul de mai jos: 1p

Cultura de microorganisme	Semnătura asistentului
<i>Nostoc</i> , colorarea polizaharidelor extracelulare	

3.5 Reproduceți, în spațiul rezervat, imaginea văzută la microscop la obiectivul 40x. Indicați localizarea polizaharidelor pe desen cu ajutorul unei săgeți și înscrieți litera P în dreptul săgeții. 2p



3.6 Răspundeți printr-un cuvânt sau îmbinare de cuvinte care este funcția realizată de polizaharidele extracelulare la cultura de *Nostoc* sp. ? 2p
