

ОЛИМПИАДА ПО ЕСТЕСТВЕННЫМ НАУКАМ ДЛЯ ЮНИОРОВ
республиканский этап, 12 мая 2019 г

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ТУР (БИОЛОГИЯ) (10,0 б.)

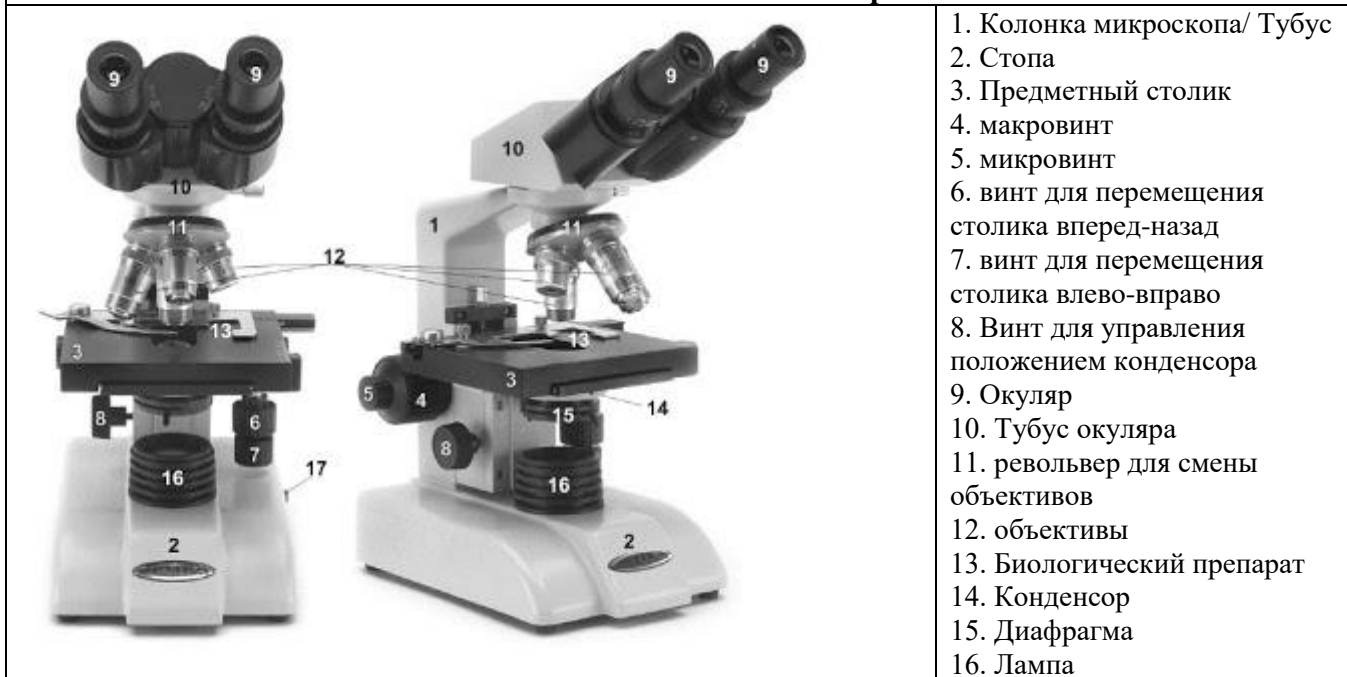
Физиология растительных клеток

Внимательно прочитайте инструкцию по использованию оптического микроскопа и протокол. Если у вас есть какие-либо вопросы или некоторые вещи вам не понятны, попросите помощь ассистента до начала практического теста.

Инструкция по использованию оптического микроскопа:

1. подключите освещение или направьте луч света в объектив используя зеркало;
2. приведите движением револьвера в оптическую ось объективы 8х или 10х;
3. смотря в окуляры поднимите или опустите конденсор для хорошего освещения препарата. Для лучшего освещения поднимите конденсор, а если свет слишком яркий опустите его. Чем выше значение объектива, тем выше придётся поднять конденсор при использовании объектива 10х достаточно расположить конденсор на 1 см ниже столика;
4. установите предметное стеклышко с препаратом на предметный столик;
5. смотря сбоку на микроскоп, максимально опустите тубус с помощью макровинта, примерно на расстояние 1 см от столика;
6. смотря через окуляры, поднимите тубус с помощью макровинта до появления четкого цветного изображения, а для наведения резкости используйте микровинт;
7. с этого момента можно использовать объективы 20х/40х;
8. **Внимание!** объективы 20х/40х используются для изучения препарата только если вы получили четкое изображение используя объектив 10х. При работе с объективами 20х/40х, макровинт не используется (в редких случаях, очень аккуратно), потому что *есть риск разбить предметное стекло!*
9. приведите движением револьвера в оптическую ось объектив 20х/40х;
10. настройте изображение с помощью микровинта;
11. по завершении работы уберите препарат на место, верните в ось объектив 10х, выключите лампу (если она использовалась) и накройте микроскоп.

Основные части оптического микроскопа



1. Колонка микроскопа/ Тубус
2. Стопа
3. Предметный столик
4. макровинт
5. микровинт
6. винт для перемещения столика вперед-назад
7. винт для перемещения столика влево-вправо
8. Винт для управления положением конденсора
9. Окуляр
10. Тубус окуляра
11. револьвер для смены объективов
12. объективы
13. Биологический препарат
14. Конденсор
15. Диафрагма
16. Лампа

Протокол

Опыт № 1

Изучение влияния катионов солей на вязкость цитоплазмы растительных клеток

Вязкость является одним из важнейших показателей физико-химического состояния цитоплазмы, характеризующий адаптивный потенциал растения. Вязкость цитоплазмы зависит также от видовых особенностей растения, характера экотипа, возраста органа и фазы онтогенеза растения. Один из наиболее простых способов - это определение ее вязкости по времени плазмолиза. Плазмолиз представляет собой потерю воды из вакуолей и растительной клеткой путем осмоса в присутствии внеклеточного гипертонического раствора. В результате происходит сокращение цитоплазмы и отрыв плазматической мембраны от жестких целлюлозных стенок на меньших или больших поверхностях. Время плазмолиза - это промежуток времени от погружения клеток в гипертонический раствор до появления выпуклого плазмолиза более чем у половины клеток в поле зрения микроскопа. Чем ниже вязкость цитоплазмы, тем меньше время плазмолиза.

Цель исследования: установить влияние катионов (K^+ , Na^+ и Ca^{2+}) на вязкость цитоплазмы используя в качестве положительного контрольного варианта сахарозу.

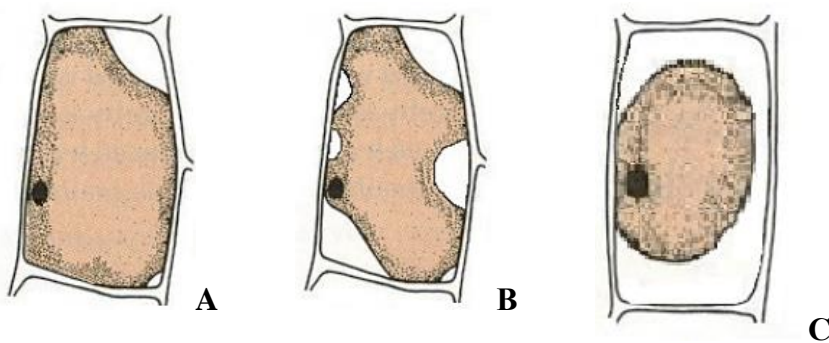


Рис. 3.1 Этапы плазмолиза

А – начинающийся/уголковый плазмолиз, **В** – вогнутый плазмолиз, **С** – выпуклый плазмолиз

А. Материалы и инструменты:

- лук репчатый *Allium cepa* L.)
- предметные стекла, покровные стекла, фильтровальная бумага, пипетки Пастера, пинцет, иглы, скальпель, стеклянные палочки, горелка Бунзена, микроскоп
- дистиллированная вода (H_2O_d)
- раствор сахарозы 1 М, ($C_{12}H_{22}O_{11}$, 1 М)
- раствор нитрата калия 1 М, (KNO_3 , 1 М)
- раствор нитрата натрия 1 М, ($NaNO_3$, 1 М)
- раствор нитрата кальция 0.7 М, ($Ca(NO_3)_2$, 1 М)

В. Ход работы:

1. Возьмите предметное стекло, удалите загрязнения с помощью фильтровальной бумаги, простерилизуйте в пламени горелки.
2. Используя пипетку Пастера нанесите на предметное стекло каплю дистиллированной воды.
3. Возьмите луковицу. Разрежьте её вдоль и снимите наружные чешуи. Отсоедините часть мясистой чешуи и при помощи скальпеля и пинцета отсоедините небольшой кусочек внешнего эпидермиса (5-10мм).

4. Положите кусочек эпидермиса в каплю воды на предметном стекле и накройте покровным стеклом избегая образования пузырьков. Раствор должен заполнить все пространство под покровным стеклом и не выходить за его пределы.
5. **Подождите 1-2 мин. и рассмотрите препарат под микроскопом** используя объективы с разной увеличительной силой (в начале **10x**, после чего **20x**).
NB! Цитоплазма клеток под микроскопом должна быть окрашена в розовый цвет. Для этого убедитесь, что вы сняли клеточный слой эпидермиса, содержащий антоцианы.
6. Позовите ассистента для проверки препарата, рассмотренного при помощи объектива **20x**. Ассистент должен будет подписаться в специально отведенном месте, **п. 3.1 из Листа ответов.**
7. Нарисуйте увиденное под микроскопом в специально отведенном месте, **п. 3.2 из Листа ответов.**
8. Выполните задачу **3.3 из Листа ответов.**
9. Возьмите новое предметное стекло, удалите загрязнения с помощью фильтровальной бумаги, простерилизуйте в пламени горелки. Нанесите на предметное стекло каплю раствора **сахарозы 1 М** ($C_{12}H_{22}O_{11}$, 1 М).
10. Отсоедините новую часть эпидермиса, поместите ее в каплю сахарозы на предметном стекле и накройте покровным стеклом. Запишите время помещения эпидермиса в раствор сахарозы в соответствующем поле в **Таблицу в п. 3.4 из Листа ответов.**
11. Подождите **5 минут** и рассмотрите препарат, под микроскопом используя **объектив10x**.
NB! убедитесь, что исследуемый участок препарата содержит один слой клеток с окрашенной в розовый цвет цитоплазмой. После того, как вы нашли такой участок, не перемещайте препарат.
12. Запишите в **Таблицу п. 3.4** вид плазмолиза, выявленный более чем у половины клеток в поле зрения микроскопа.
13. Рассмотрите препарат по истечении **10, 15 и 20 минут от погружения эпидермиса** в раствор сахарозы. Запишите в **Таблицу п. 3.4** вид плазмолиза, выявленный более чем у половины клеток в поле зрения микроскопа.
N.B.! временный препарат может высохнуть. Чтобы избежать этого, добавьте каплю раствора под покровное стекло.
14. Нарисуйте, только для раствора сахарозы, увиденное под микроскопом по истечении 5, 10, 15 и 20 минут от погружения эпидермиса в раствор, в специально отведенном месте, **п. 3.5 из Листа ответов.**
15. Повторите **шаги 9-13** используя по очереди растворы нитрата калия 1 М, (KNO_3 , 1 М), нитрата натрия 1 М, ($NaNO_3$, 1 М), нитрата кальция 0.7 М, ($Ca(NO_3)_2$, 1 М).
16. Выполните задание, **п. 3.6 из Листа ответов.**