

**Задания практического тура заключительного этапа XXXVIII Всероссийской  
олимпиады школьников по биологии. 2021-22 уч. год. 11 класс**

**ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ**

**Оборудование:** спиртовой экстракт листьев петрушки (*Petroselinum crispum*), штатив с четырьмя пробирками, пипетки Пастера, сухой порошок NaOH, 0,1н HCl, ёмкость с уайт-спиритом, ёмкость с этиловым спиртом, ёмкость с водой, маркер по стеклу.

**Часть I. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ ЗЕЛЕНОГО ЛИСТА**

**Задание 1. (11 баллов)**

1. У Вас в штативе находятся 4 пробирки. В одной из пробирок 5-6 мл спиртовой вытяжки листьев петрушки. Обозначьте эту пробирку номером 1. Пронумеруйте остальные пробирки номерами 2, 3, 4.
2. Из пробирки №1 чистой пипеткой Пастера отберите в пустую пробирку №2 2 мл спиртовой вытяжки. Долейте в пробирку №2 2 мл уайт-спирита и добавьте 1-2 капли воды. Тщательно перемешайте содержимое пробирки. Дайте содержимому пробирки отстояться. Внимательно изучите получившиеся слои. Как Вы думаете, какой растворитель находится в верхнем слое, а какой в нижнем? Какие группы пигментов содержатся в каждом из слоёв? Выберите пигменты из списка (список может быть избыточным): **А.** Хлорофиллы; **Б.** Каротины; **В.** Ксантофиллы. Ответы занесите в таблицу 1 в листе ответов.
3. Из пробирки №2 чистой пипеткой Пастера аккуратно отберите верхний слой, поместите его в пустую пробирку №3. Добавьте в нее 1,5-2 мл этилового спирта и 1-2 капли воды. После этого добавьте в ту же пробирку NaOH на кончике шпателя. Тщательно перемешайте содержимое пробирки. По окончании перемешивания дайте содержимому пробирки отстояться. Внимательно изучите получившиеся слои. Как Вы думаете, какой растворитель находится в верхнем слое, а какой в нижнем? Какие группы пигментов содержатся в каждом из слоёв? Выберите пигменты из списка (список может быть избыточным): **А.** Окрашенный продукт реакции хлорофиллов со щёлочью; **Б.** Каротины; **В.** Ксантофиллы. Ответы на занесите в таблицу 1 в листе ответов. В течение практического тура к Вам подойдет проверяющий и оценит выполнение Вами экспериментальной части.

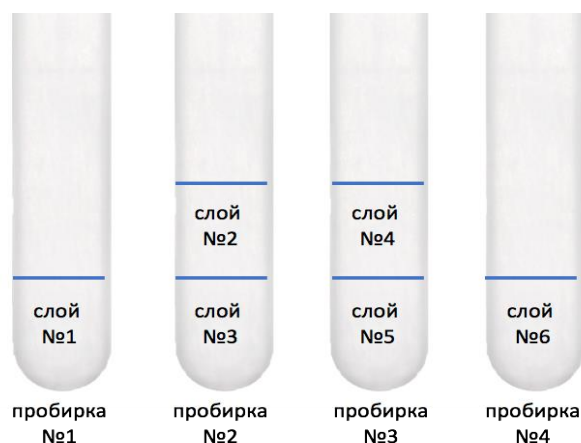
**Таблица 1.** Пигментный состав слоёв в пробирках 2 и 3 (см. в листе ответов)

4. Из пробирки №1 пипеткой Пастера отберите 2 мл спиртовой вытяжки пигментов в пустую пробирку №4. Долейте в пробирку №4 0,5-1 мл 0,1н HCl. Внимательно рассмотрите получившийся раствор. Подумайте, какие изменения произошли под действием кислоты.

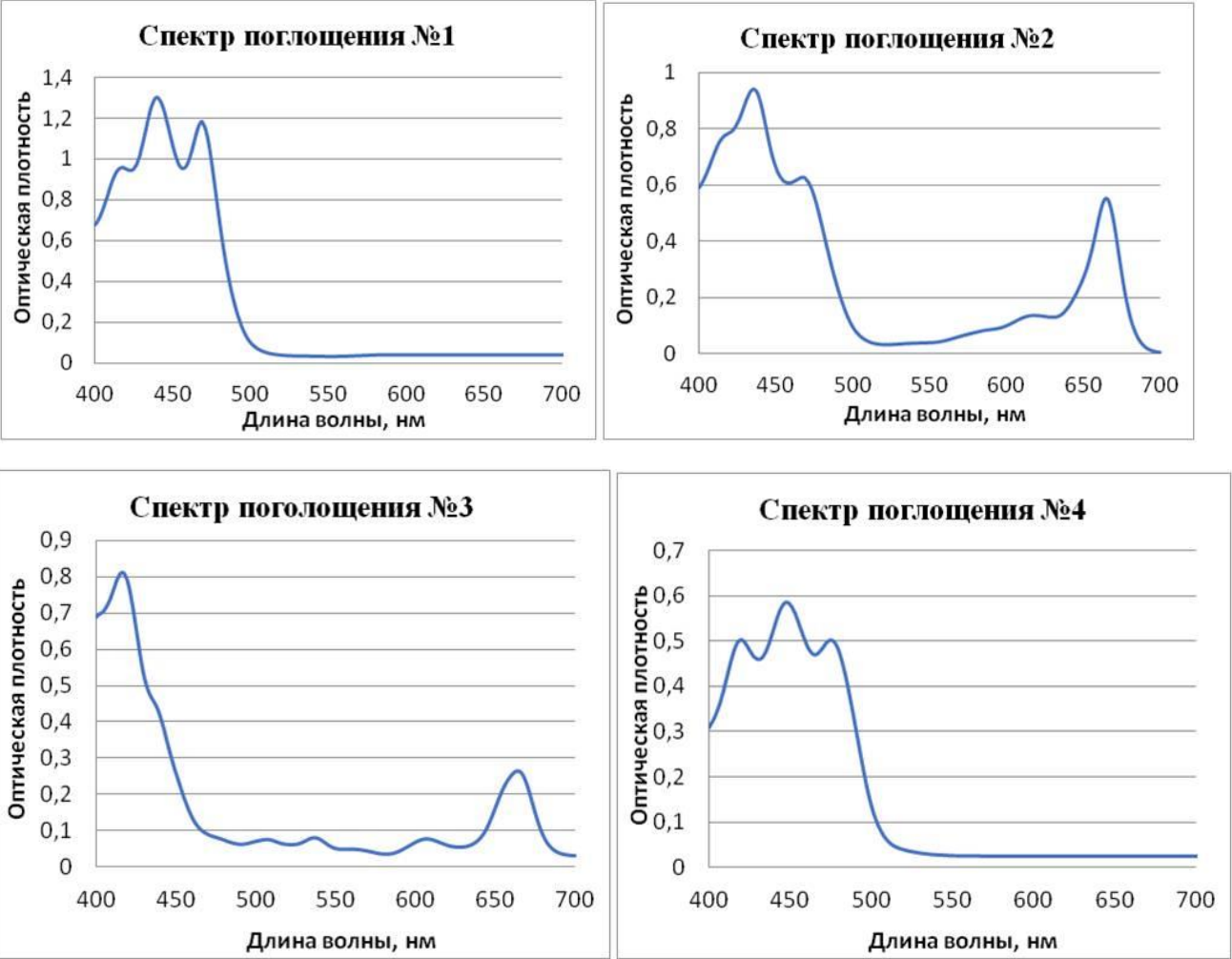
**Задание 2. (12 баллов)**

После выполнения задания 1 у Вас в штативе оказалось 4 пробирки с разнообразным содержимым (см. рис.1). В пробирках 1 и 4 только один слой жидкости, а в пробирках 2 и 3 по два слоя.

**Рисунок 1.** Нумерация слоёв во всех пробирках после выполнения задания 1.



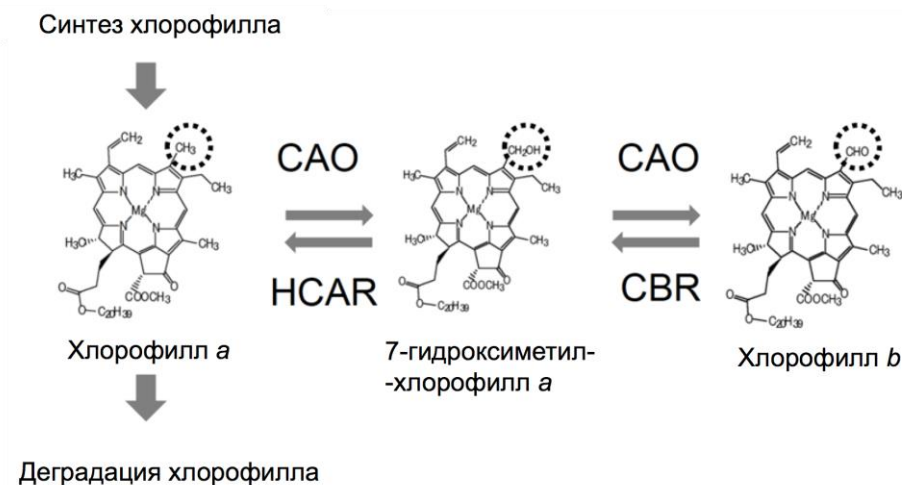
На практикуме по физиологии растений студенты проводили такой же эксперимент. Они записали спектры поглощения слоёв из некоторых пробирок. Соотнесите каждый спектр поглощения со слоем жидкости, из которого он был получен. Имейте в виду, что студенты забыли записать спектр поглощения продукта взаимодействия хлорофилла со щелочью. Все спектры получены из разных пробирок. Также известно, что спектр 1 соответствует одному из слоев из пробирки 2. Свои ответы занесите в таблицу 2 в листе ответов.



**Таблица 2.** Спектры поглощения слоев в пробирках (см. в листе ответов)

### **Часть II. АККЛИМАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА К УСЛОВИЯМ ОСВЕЩЕНИЯ**

Свет для растений является одним из важнейших абиотических факторов среды. Фотосинтетический аппарат растений способен быстро и эффективно менять свою структуру и функционирование при изменении интенсивности света или его спектрального состава. Светособирающие комплексы играют важную роль в быстрой акклимации. Известно, что хлорофилл *b* ассоциирован только со светособирающими комплексами (ССК, они же LHC) и не содержится во внутренних антеннах и на коровых белках фотосистем. Согласно ряду исследований, количество функционирующих светособирающих комплексов ССК II (LHCII) прямо пропорционально количеству хлорофилла *b*. Взаимные превращения хлорофилла *a* и *b* называют циклом хлорофилла (рисунок 2).



**Рисунок 2.** Цикл хлорофилла. CAO – оксигеназа хлорофилла *a*, CBR – хлорофилл *b*-редуктаза, HCAR – гидроксиметилхлорофилл-редуктаза.

### Задание 3. (4 балла)

Ниже в таблице 3 приведены результаты определения содержания хлорофиллов *a* и *b* у *Veronica montana* L. в центральном Уэльсе, занимающей различные местообитания, контрастные по условиям освещения – от открытых песчаных дюн до тенистых лесных долин. В столбце R : FR дано соотношение красных (680 нм) и дальних красных квантов (730 нм) солнечного излучения для каждой из точек сбора материала.

**Таблица 3.** Зависимость отношения хлорофиллов *a* и *b* (Chl *a* : Chl *b*) от спектрального состава света (R : FR) в различных местообитаниях

Номер местообитания	R : FR	Chl <i>a</i> : Chl <i>b</i>
1	1,04	1,80
2	1,04	1,63
3	0,76	1,35
4	0,67	1,01
5	0,39	0,80

Изучите таблицу 3. На основе приведенных данных и Ваших знаний выберите верные(ое) утверждения(е). Ответ внесите в лист ответов.

1. Чем выше отношение R:FR, тем больше затенение, создаваемое растениями более верхних ярусов.
2. Более высокая доля хлорофилла *b* соответствует растениям, обитающим в условиях затенения.
3. Местообитания 4 и 5 относятся к открытым пространствам.
4. Фоторецепторы фитохромы способны передавать сигнал об изменении соотношения красного и дальнего красного света.
5. За рецепцию красного и дальнего красного света отвечают фоторецепторы криптохромы.

#### Задание 4. (12 баллов)

Студенты на практикуме определяли содержание хлорофиллов *a* и *b* в листьях двух растений *Veronica montana* L., которые росли в разных условиях освещения - одно на открытом месте, а другое в лесу. Для этого они взяли образцы листьев, взвесили их, растерли в 80% ацетоне с добавлением  $\text{CaCO}_3$  для предотвращения феофитинизации хлорофилла и отфильтровали. Объем отфильтрованного раствора довели до 10 мл 80%-ным ацетоном. Далее они определили оптическую плотность раствора (*D*) при 646 и 663 нм, при этом используя 80%-ный ацетон для калибровки спектрофотометра.

1. (6 баллов) Используя формулу Лихтенталера для определения концентрации хлорофиллов *a* и *b* в 80%-ном ацетоне и данные о массах исходных образцов листьев, рассчитайте концентрации хлорофиллов *a* и *b* для каждого из растений, а также отношение концентрации хлорофилла *a* к концентрации хлорофилла *b* (*a/b*). Заполните таблицу 4 в листе ответов. **Все вычисления округляйте до 3 знака после запятой. При расчете отношения используйте данные, внесенные Вами в таблицу.**

Формула Лихтенталера для 80%-ного ацетона

$$C_a = 12,21 \times D_{663} - 2,81 \times D_{646}$$

$$C_b = 20,13 \times D_{646} - 5,03 \times D_{663},$$

где *C* - концентрации соответствующих пигментов в растворе, используемом для определения оптической плотности (мг/л). *D* - оптическая плотность при указанных длинах волн.

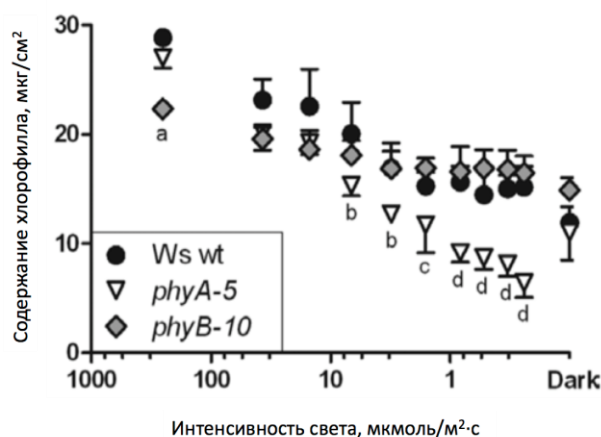
**Таблица 4.** Расчет содержания хлорофиллов *a* и *b* в образцах из листьев двух растений *Veronica montana* L., обитавших в разных условиях освещения (см. в листе ответов)

2. (2 балла) Определите, какое из растений росло на открытой местности, а какое - в лесу. Ответы внесите в лист ответов.

3. (4 балла) Какие адаптивные преимущества дает изменение отношения хлорофиллов *a* и *b* при изменении условий освещения? Дайте максимально подробное объяснение. Ответ внесите в лист ответов.

#### Задание 5. (5 баллов)

Рассмотрите результаты эксперимента, представленные на диаграмме ниже. *Ws wt* – дикий тип арабидопсиса (экотип Wassilevskaya), *phyA-5* – рецессивный мутант арабидопсиса по фитохрому А, *phyB-10* – рецессивный мутант арабидопсиса по фитохрому В. Отдельные листья 6-недельных растений затеняли на 6 дней, создавая определенную интенсивность света, после чего листья собирали и проводили определение содержания суммы хлорофиллов *a* и *b* в них. Под разными буквами (a – d) обозначены выборки, продемонстрировавшие статистически значимые различия.



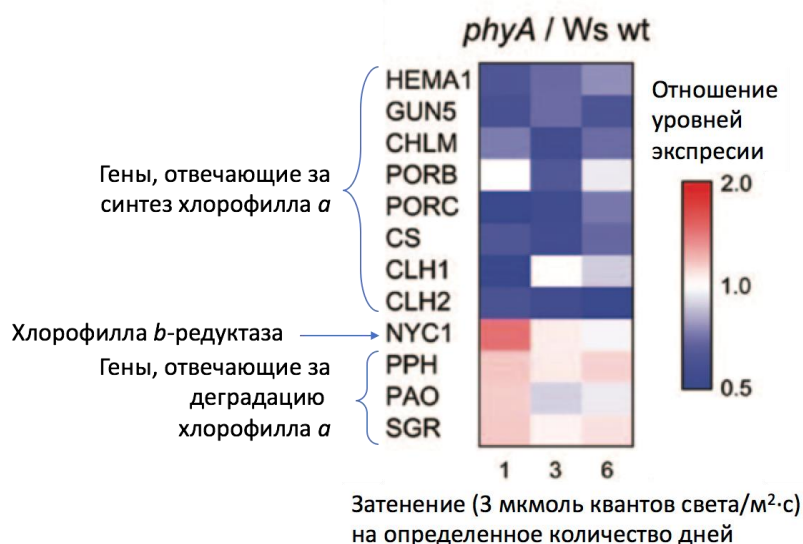
**Рисунок 3.** Зависимость содержания хлорофилла от интенсивности света.

Выберите верное(ые) утверждение(я). Ответ внесите в лист ответов.

- 1) Количество хлорофилла у арабидопсиса в условиях данного эксперимента не зависит от интенсивности освещения.
- 2) Количество хлорофилла регулируется фитохромом В при низких, а фитохромом А при высоких значениях интенсивности света.
- 3) Количество хлорофилла регулируется только фитохромом А при всех значениях интенсивности света.
- 4) Количество хлорофилла регулируется только фитохромом В при всех значениях интенсивности света.
- 5) Количество хлорофилла регулируется фитохромом А при низких значениях интенсивности света.

#### **Задание 6. (6 баллов)**

Далее в эксперименте, описанном в задании 5, провели анализ экспрессии генов, участвующих в регуляции содержания хлорофиллов (синтез/деградация/превращения хлорофиллов). Перед Вами тепловая карта отношения уровня экспрессии генов у мутанта по фитохрому А к уровню экспрессии генов у растения дикого типа. Гены перечислены по вертикали. По горизонтали указано количество дней, в течение которых растения были затенены. Справа на иллюстрации цветовая шкала: синий указывает, что отношение уровней экспрессии низкое, красный - что отношение уровней экспрессии высокое. Выберите верные утверждения.



**Рисунок 4.** Тепловая карта отношения уровня экспрессии генов у мутанта по фитохрому А к уровню экспрессии генов у растения дикого типа.

Выберите верные(ое) утверждения(е). Ответ внесите в лист ответов.

- 1) Фитохром А в начале 6-дневного периода слабого освещения ингибирует превращение хлорофилла *b* в хлорофилл *a*.
- 2) Фитохром А в начале 6-дневного периода слабого освещения стимулирует накопление только хлорофилла *b*.
- 3) Фитохром А в начале 6-дневного периода слабого освещения стимулирует деградацию хлорофилла *a*.
- 4) Фитохром А в начале 6-дневного периода слабого освещения ингибирует синтез хлорофилла *a*.
- 5) Фитохром А в конце 6-дневного периода слабого освещения перестает ингибировать превращение хлорофилла *b* в хлорофилл *a*.