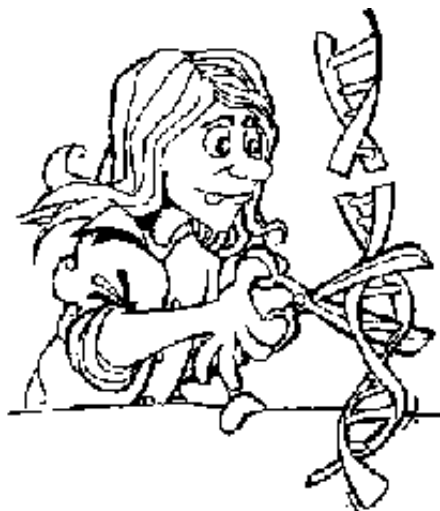


Číslo súťažiaceho: _____

Dátum: _____



BIOLOGICKÁ OLYMPIÁDA

40. ročník

Kategória A - krajské kolo

Praktická časť – laboratórne úlohy

Milí súťažiaci,

v tejto časti súťaže budete riešiť dve úlohy - jednu praktickú úlohu z kvasiniek, druhú teoreticky z vírusov. Na vyriešenie prvej úlohy máte 45 minút a na vyriešenie druhej 60 minút. Najskôr si pozorne prečítajte, čo máte robiť, aby ste si vedeli správne zadeliť čas a rozhodnúť sa, ako budete pri riešení postupovať. Všetky pomôcky máte pripravené na stole. V prípade nejasností sa opýtajte asistenta. Ak Vám nestačí miesto, ktoré je na úlohy určené, použite miesto na konci tejto časti.

Prajeme Vám veľa úspechov!

Slovenská komisia Biologickej olympiády

BOTANIKA

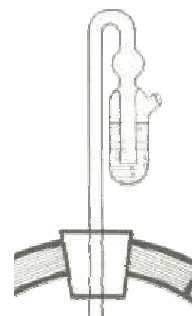
Téma: Hubové organizmy

Úvodné informácie: Huby alebo hubové organizmy sú „pavučinou života“ na Zemi, významné dekompozitory, bez nich by bol výrazne spomalený kolobeh látok a samotné baktérie by „nestačili“ na takú biomasu odumretých organizmov. Okrem iného žijú v symbióze s mnohými organizmami, alebo naopak sú parazitmi. Zásľuhou ich špecifických bioaktívnych látok sú jednotkou pri produkcii antibiotík a iných látok využívaných v prospech človeka. V tejto úlohe budete mať možnosť spoznať už Vám známu každodenne konzumovanú jednobunkovú hubu – kvasinku a jej vlastnosti z jednotlivých experimentov.

Úloha: Kvasinky a ich fyziologické funkcie

Materiál: čerstvé droždie (pivovarské kvasnice), kultúra kvasiniek v živnom roztoku podľa Hansena

Pomôcky: skúmavky, stojan, fixka na sklo, vodný kúpeľ, Petriho misky, filtračný papier, kvapkadlo, pipety, 0,01 % roztok metylénovej modrej, bakteriologická kľučka (vnútorný priemer očka max 4 mm), Fehlingove činidlo I a II, cukor, Erlenmayerové banky s kvasnou zátkou (pozri obr. 1)



Obr. 1: Kvasná zátku

Postup:

1. Pripravte mikroskopický preparát z droždia. Vzorku odoberte pokiaľ možno z vnútra zlisovanej hmoty. Preparát nakreslite a opíšte. Dbajte na to, aby v zornom poli bolo len toľko buniek, aby ste ich mohli spočítať (max 200). Najvhodnejšie zväčšenie na pozorovanie je 600-krát.

Nákres:

2. Pripravte mikroskopický preparát z kultúry kvasiniek pestovaných v živnom roztoku podľa Hansena. Preparát opäť zakreslite a opíšte.

Nákres:

3. Stanovenie množstva mŕtvych kvasiniek – tzv. vitálny test. Na dokonale čisté podložné sklo kvapnite kvapkadlom úmerné množstvo 0,01 % roztoku metylénovej modrej a kľúčkou (očkom) preneste do farbiva suspenziu kvasiniek (vodu už nepridávajte). Spočítajte v 10 zorných poliach mŕtve a živé bunky a vyjadrite množstvo mŕtvych buniek v percentách. Mŕtve bunky sú tmavomodro sfarbené, živé bezfarebné nanajvýš mierne modrasté. Táto skúška sa bežne robí v laboratóriách pivovarov. Ak je v kultúre viac ako 5 % mŕtvych buniek, kultúra kvasiniek je vyradená.

4. Uskutočnite dôkaz prítomnosti enzýmu sacharázy a presvedčte sa o jeho tepelnej nestálosti. Kvasinky obsahujú množstvo enzýmov, ktoré podmieňujú dôležité biochemické procesy prebiehajúce pri liehovom kvasení cukornatých roztokov. Obsahujú aj enzým sacharázu alebo invertázu, ktorý hydrolyzuje disacharid sacharózu na zmes monosacharidov – glukózu a fruktózu. Vašou úlohou bude zistiť, či enzým sacharáza odoláva účinku vyšších teplôt (je termostabilný) alebo sa pôsobením vyšších teplôt inaktivuje (je termolabilný). Z priebehu reakcií a ich výsledkov stanovte správny záver:
 - A) Do kadičky dajte kúsok droždia veľkosti hrášku, prilejte 10 cm³ vody a dobre premiešajte. V skúmavke, ktorú označte písmenom A, rozpustíte v 10 cm³ vody pol kocky repného cukru, skúmavku dajte na stojan.
 - B) Do skúmavky, ktorú označte písmenom B, zlejte 5 cm³ Fehlingovho roztoku I a 5 cm³ Fehlingovho roztoku II. Skúmavky dajte na stojan.

- C) Do čistej skúmavky označenej č. 1 preneste 1 cm³ roztoku cukru zo skúmavky A, pridajte 1 cm³ Fehlingovho činidla zo skúmavky B a varte. Skúmavku vložte do stojana. Napíšte, či je reakcia pozitívna alebo negatívna.
- D) Zoberte ďalšiu skúmavku označenú č. 2. Preneste do nej 1 cm³ suspenzie kvasiniek z kadičky, pridajte 1 cm³ roztoku cukru zo skúmavky A a nechajte pôsobiť 3 minúty. Potom pridajte 1 cm³ Fehlingovho činidla. Varte a vložte do stojana. Zaznamenajte výsledok.
- E) Do ďalšej skúmavky označenej č. 3 preneste 1 cm³ suspenzie kvasiniek, pridajte 1 cm³ roztoku cukru zo skúmavky A a nechajte pôsobiť 3 minúty. Potom pridajte 1 cm³ Fehlingovho činidla a varte. Skúmavku vložte do stojana. Výsledok zaznamenajte.
- F) Do skúmavky označenej č. 4 preneste 2 cm³ suspenzie kvasiniek. Varte 2 minúty. Potom prilejte 1 cm³ roztoku cukru zo skúmavky A a prilejte 2 cm³ Fehlingovho činidla a opäť varte. Aká je reakcia? Skúmavku vložte do stojana. Zhodnoťte výsledky reakcií v skúmavkách 1–4, odôvodnite svoje výsledky.

Zistenia a odôvodnenia:

Skúmavka č. 1:

Skúmavka č. 2:

Skúmavka č. 3:

Skúmavka č. 4:

Doplňujúce otázky:

1. Ako sa rozmnožujú kvasinky?

2. Vysvetlite, prečo sa mŕtve bunky hneď zafarbia na tmavomodro, fyziologicky oslabené bunky sú len modrasté a živé bunky sú nezafarbené?

3. Prečo nádoby s kvasiacimi cukornatými roztokmi uzatvárame kvasnou zátkou s vápennou vodou?

4. Vysvetlite stručne biochemický dej prebiehajúci pri liehovom kvasení. Dej vyjadrite chemickou reakciou.

5. Chemickou reakciou vysvetlite, prečo došlo k zakaleniu vápennej vody v kvasnej zátkke?

6. Zakalená vápenná voda sa môže po dlhšom prebublávaní unikajúcim plynom opäť vyčíriť. Napíšte chemickú reakciu.

MIKROBIOLÓGIA

Téma: Vírusy – molekulárne parazity

Vírusy sú vnútrobunkové parazity, u ktorých nepozorujeme žiadne metabolické prejavy, pokiaľ sa nenachádzajú vo vnútri hostiteľskej bunky. V istom zmysle by sme ich mohli nazývať molekulárnymi parazitmi, keďže ich interakcia s hostiteľom prebieha predovšetkým na molekulárnej úrovni. V tejto úlohe sa pokúsime zamyslieť nad týmto molekulárnym parazitizmom a niektorými jeho dôsledkami. Pre svoje vlastné množenie využívajú vírusy predovšetkým tie bunkové mechanizmy, ktoré zaisťujú rast a množenie samotných hostiteľských buniek. Najdôležitejšími z týchto mechanizmov sú replikácia, transkripcia a translácia. V jadre eukaryotických buniek sa odohráva replikácia, pomocou ktorej sa zdvojuje DNA pre mitózu, a transkripcia, teda prepis informácie obsiahnutej v géne (DNA) do mRNA (mediátorová RNA). V cytoplazme na ribozómoch následne prebieha translácia, teda syntéza bielkovín podľa vzoru mRNA. Vírusy, rovnako ako hostiteľské bunky, potrebujú pre svoje rozmnoženie replikovať svoju nukleovú kyselinu a syntetizovať podľa nej vírusové bielkoviny. V ich životnom cykle sa preto tiež nachádza replikácia, transkripcia a translácia.

1. Prvým krokom infekcie hostiteľskej bunky vírusom je prichytenie (tzv. adhézia) vírusu na bunkový povrch. Kľúčovú úlohu v tomto procese zohráva tzv. vírusový receptor na povrchu bunky, na ktorý sa vírus viaže.

A) Čo označujeme ako vírusový receptor na bunkovom povrchu? Pokúste sa tento termín stručne definovať.

B) Pokiaľ hostiteľská bunka tento receptor nemá, môže dôjsť k infekcii tejto bunky daným vírusom? Svoju odpoveď zdôvodnite.

C) Ako súvisí prítomnosť vírusového receptora na povrchu hostiteľských buniek s tzv. tkanivovou špecifitou vírusovej infekcie?

2. Po naviazaní vírusu na bunkový povrch nastáva prienik vírusu do bunky a obnaženie vírusovej nukleovej kyseliny. Ďalším krokom je replikácia, ktorá u niektorých vírusov prebieha v jadre a u niektorých v cytoplazme. Vírusy však pre svoju replikáciu potrebujú okrem rôznych bunkových komponentov aj svoje vlastné proteíny, ktoré kóduje vírusová nukleová kyselina. (Teoreticky by si vírus všetky proteíny potrebné pre svoju replikáciu mohol priniesť hotové zo sebou, ale takáto vírusová častica by bola omnoho väčšia, čo by vírusu prinieslo veľa nevýhod.) Pred replikáciou preto musí vo väčšine prípadov nastať transkripcia a translácia tzv. včasných vírusových génov, ktorých proteínové produkty (včasné proteíny) umožnia replikáciu vírusového genómu. Po replikácii vírusových genómov nastáva ďalšia vlna transkripcie a translácie, pri ktorej sú prepisované tzv. neskoré vírusové gény. Vzniknuté neskoré proteíny sú nevyhnutné na vytvorenie „vírusového potomstva“.

A) Vieme, že včasné proteíny nie sú vo vírusových časticiach obsiahnuté. Skúste stručne napísať, prečo tam nemusia byť.

B) Väčšina neskorých proteínov naopak tvorí spolu s nukleovou kyselinou vírusovú časticu. Podčiarknite tie proteíny, ktoré by mali patriť medzi neskoré vírusové proteíny obaleného DNA vírusu (a teda sú obsiahnuté vo vírusovej častici):

- kapsidový proteín,
- DNA polymeráza,
- transmembránový vírusový proteín,
- vírusový faktor zahajujúci replikáciu vírusu,
- vírusový proteín umožňujúci vstup vírusu do bunky,
- vírusový faktor brániaci replikácii hostiteľskej bunky.

3. Na type vírusovej nukleovej kyseliny závisí celkový priebeh životného cyklu vírusov. Pri DNA vírusoch prebieha životný cyklus vyššie napísaným spôsobom, pri RNA vírusoch však to môže byť ináč. Dvojvláknové RNA vírusy sú životnou stratégiou porovnateľné s DNA vírusmi. Jednovláknové RNA vírusy môžeme rozdeliť na dva typy. Sú to vírusy, ktorých RNA genóm slúži priamo ako mRNA, teda priamo ako vzor pre transláciu. Takáto RNA sa označuje ako pozitívna RNA a vírusy s takýmto genómom ako pozitívne RNA vírusy. Existujú však aj vírusy s negatívnym RNA genómom (negatívne RNA vírusy), u ktorých musí dôjsť najskôr ku transkripcii genómovej RNA do mRNA (včasná transkripcia), až z nej je možná translácia.

A) Zoradte udalosti tak, ako k nim dochádza pri infekcii bunky DNA vírusom: včasná translácia, neskorá translácia, včasná transkripcia, neskorá transkripcia, replikácia genómu, vstup vírusu do bunky.

B) Bude sa toto poradie udalostí odlišovať pri infekcii bunky negatívnym RNA vírusom? Ak áno, tak ako?

C) Pri infekcii bunky pozitívnym RNA vírusom je jedna udalosť vynechaná. Ktorá?

4. Ďalším krokom životného cyklu vírusov je vytvorenie vírusového potomstva, to nastáva pri dostatočnej zásobe vírusovej nukleovej kyseliny a neskorých proteínov v bunke. Novo vytvorené vírusové častice sú potom z bunky uvoľnené lýzou (prasknutím) hostiteľskej bunky alebo postupným pučaním z tejto bunky. Spôsob uvoľnenia vírusov sa líši podľa toho, či sa jedná o vírus neobalený (nukleovú kyselinu vírusov chráni len proteínová kapsida) alebo obalený (nad kapsidou je navyše obalová membrána).

A) Akým spôsobom sa uvoľňujú z buniek vírusy obalené a akým neobalené?

Neobalené: _____

Obalené: _____

B) Jeden z dvoch spomenutých spôsobov uvoľňovania vírusov z buniek nemusí hostiteľskú bunku bezpodmienečne zabiť. Ktorý a prečo?

C) Obalené vírusy sú schopné infikovať hostiteľskú bunku len vtedy, ak majú obalovú membránu. V tejto membráne sú totiž zabudované početné transmembránové vírusové proteíny, ktoré sú nevyhnutné pre úspešný prienik vírusu do hostiteľskej bunky. Je teda jednoduchšie zneškodniť obalený vírus ako vírus neobalený. Predstavte si, že potrebujete vysterilizovať skalpel znečistený obalom vírusu a k dispozícii máte nejaké organické rozpúšťadlo, napríklad éter. Boli by ste úspešní? A ako by ste dopadli v prípade neobaleného vírusu? Ako účinná bude v oboch prípadoch sterilizácia teplom, napríklad opálenie použitého skalpelu nad plameňom?

Odpovede na tieto otázky vypíšte do nasledujúcej tabuľky pomocou značiek:

+ je účinná sterilizácia

- nie je účinná sterilizácia

vírus	éter	plameň
obalený		
neobalený		

5. Zvláštny typ životného cyklu majú tzv. retrovírasy. Ich genómová jednovláknová RNA je po vstupe vírusu do bunky prepísaná do DNA a tá je vložená do genómovej DNA hostiteľskej bunky. Transkripcia samotných vírusových mRNA potom prebieha práve z tejto vlozenej vírusovej DNA. Samotný prepis vírusovej RNA do DNA zaistí reverzná transkriptáza, ktorá je obsiahnutá vo vírusovej častici a retrovírus si ju prináša so sebou pri infekcii hostiteľskej bunky.

A) Retrovírasy majú oproti ostatným vírusom jednu veľkú výhodu, predovšetkým vzhľadom ku vytrvalosti, s akou svojho hostiteľa využívajú. (Určite ste o tom počuli, ako býva vytrvalá infekcia retrovírusom, vírusom HIV.) V čom spočíva táto výhoda?

(Pomôcka: Uvedomte si, ako sa v konečnom dôsledku odlišuje výsledok liečenia obvyčajnej vírusovej infekcie od výsledku liečenia infekcie retrovírusovej.)

B) Reverzná transkriptáza pracuje tak, že podľa jednovláknovej RNA najprv vytvorí komplementárne vlákno DNA a k nemu opäť komplementárne druhé vlákno DNA. Výsledkom je teda dvojvláknová DNA obsahujúca genetickú informáciu retrovírusu, ktorá môže byť vložená do genómu hostiteľskej bunky. Napíšte sekvenciu dvojvláknovej DNA, ktorá vznikne reverznou transkripciou tohto RNA reťazca.

ACCCGGUCUUAUCAA

6. Základným predpokladom pre úspešný výskum vírusov, ale i pre tvorbu protivírusových vakcín je možnosť kultivovať vírus v laboratóriu. Na základe svojich znalostí o životných nárokoch vírusov podčiarknite médiá, v ktorých by bolo v princípe možné úspešne kultivovať živočíšny obalený DNA vírus (zanedbajte potrebu špecifického vírusového receptora):

- kurací zárodok,
- agarová kultivačná pôda,
- laboratórna kultúra myších buniek,
- mäsopeptónový bujón,
- bunkový lyzát získaný popraskaním cytoplazmatických membrán buniek,
- živá myš,
- hl'uzý zemiaka.

7. Z pohľadu medicíny sa vírusy (ale aj ostatné patogénne organizmy) delia predovšetkým na základe epidemiologických príznakov. A práve k epidemiológii sa budú vzťahovať nasledujúce otázky:

A) Dokonca i cez nesmiernu snahu súčasnej modernej medicíny a využitia všetkých dostupných vedeckých poznatkov sa ľudstvu podarilo zo sveta odstrániť len jednu jedinú ľudskú chorobu.

O akú chorobu sa jedná? _____

Kto je jej pôvodcom (t. j. či sa jedná o chorobu vírusovú, bakteriálnu, hubovú poprípade inú)?

B) Napíšte, aké je v našej republike najčastejšie vírusové ochorenie, ktoré má vážny zdravotný dopad na celú našu spoločnosť? Akým spôsobom sa šíri z človeka na človeka?

C) Aké dve základné možnosti v obrane proti vírusovým ochoreniam poskytuje moderná medicína? Stručne popíšte ich princíp.

D) Arbovírusy, alebo vírusy prenášané článkonožcami, sú ďalšími nebezpečnými patogénmi človeka, ale aj hospodárskych a voľne žijúcich zvierat. V nasledujúcom zozname podčiarknite tie ochorenia, o ktorých predpokladáte, že sú vyvolané arbovírusmi:

- | | |
|--------------------|----------------------|
| • žltá zimnica, | • Ebola, |
| • žltáčka typu A, | • horúčka Dengue, |
| • malária, | • príušnice, |
| • slintačka, | • Chagasova choroba, |
| • tularémia, | • Škrvnitý týfus. |
| • lymeská choroba, | |

E) Aby sa človek nakazil vírusovým ochorením, nemusí byť uštipnutý len krvicajúcim hmyzom (resp. článkonožcami). Uveďte ochorenie, pre ktoré je typický prenos pri pohryzení (medzi stavovcami).

F) Tzv. „prírodná ohniskovosť nákaz“ sa týka najmä nákaz, ktoré sú na človeka prenosné rôznymi vektormi (prenášačmi) z voľne žijúcich zvierat. Stručne uveďte, akú rolu v životnom cykle týchto parazitov zohráva sám človek.
