

Autorské riešenia

Obidve praktické úlohy sú pripravené na 60 minút, na test odporúčame 90 minút . Max. počet bodov za test je 80, za praktickú úlohu č.1 je max. počet 40 bodov a za praktickú úlohu č.2 je max. počet 45 bodov. Úspešný riešiteľ musí mať nad 50 % bodov. V prípade rovnosti bodov rozhoduje počet bodov za test.

Praktická úloha č. 1.**Príprava a charakterizácia vakcíny proti baktérii *Haemophilus influenzae***

Potrebné pomôcky : pero, kalkulačka, papier na pomocné výpočty, odpovedový hárk

Teoretický úvod

Hemofily (*Haemophilus influenzae*) sú gram-negatívne fakultatívne anaeróbne patogénne baktérie. Sú jedným z najčastejších pôvodcov infekcií horných a dolných dýchacích ciest u ľudí. Najrizikovejšou skupinou postihnutou týmito ochoreniami sú malé deti do 5 rokov ako aj staršia populácia nad 65 rokov. Ochorenia spôsobené touto baktériou rozdeľujeme do dvoch základných skupín na základe závažnosti priebehu – neinvazívne a invazívne hemofilové infekcie. Kým neinvazívne sú menej závažné bez výrazných komplikácií (najčastejšie zápaly stredného ucha - otitídy, spojiviek - konjunktivitídy alebo prínosových dutín -sinusitídy), invazívne ochorenia sú spojené s priamym ohrozením života a potenciálnymi doživotnými komplikáciami po prekonaní infekcie (ide najčastejšie o bakteriémie, sepsy, pneumónie a meningitídy).

Keďže tieto baktérie predstavujú vážne ohrozenie života najmä u malých detí, hľadanie vhodnej liečby a prevencie je dôležitým aspektom ochrany pred týmito patogénmi. Jednou z potenciálnych ciest je antibiotická liečba. V súvislosti s narastajúcim využívaním antibiotík však dochádza aj k enormnému nárastu rezistencie na tieto liečivá a tie už neposkytujú dostatočnú kauzálnu liečbu. Preto sa najvhodnejšou cestou zdá byť prevencia a to práve pomocou vakcinácie.

Vašou dnešnou úlohou bude v teoretickej rovine postupovať krok po kroku celým procesom vývoja a charakterizácie vakcíny proti hemofilom presne tak ako by pri jej výskume postupovali vedecké tímy – prejdete si procesom nájdenia vhodného antigénu, pomocných látok, dávkovacích schém ako aj bezpečnostných a účinnostných štúdií. Držíme Vám prsty pri tejto neľahkej úlohe.

Svoje odpovede po vypracovaní teoreticko-praktickej časti zaznačte do odpovedového hárku, ktorý odovzdáte po skončení.

Teoreticko-praktické úlohy

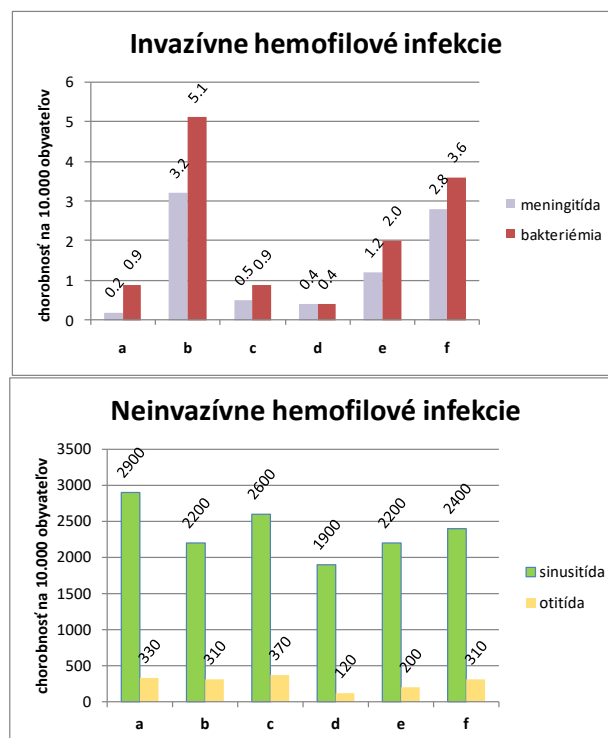
Na základe prítomnosti puzdra rozdeľujeme hemofily na neopuzdrené a opuzdrené typy. Neopuzdrené typy sú vo všeobecnosti menej invazívne, s menej závažným priebehom ochorenia. Opuzdrené typy spôsobujú invazívnejšie ochorenia a častokrát sú schopné infikovať aj krvné riečisko (bakteriémia), prípadne mozgovomiešnú tekutinu a mozgové obaly (meningitída), čoho výsledkom je život ohrozujúci stav a v mnohých prípadoch aj smrť.

1) Aký je hlavný význam bakteriálneho puzdra u patogénnych baktérií? Označte jednu správnu odpoveď.

- a) Mechanická podpora bunkovej steny
- b) Ochrana pred pôsobením hypotonického prostredia telových tekutín
- c) Ochrana pred pôsobením zložiek imunitného systému**
- d) Zníženie priepustnosti oxidačných činidiel hostiteľského organizmu, ktoré poškadzujú bunkové štruktúry

Keďže opuzdrené typy spôsobujú vo všeobecnosti závažnejšie infekcie, rozhodli ste sa pripraviť vakcínu práve proti týmto hemofilom, ktorá bude podávaná najrizikovejšej skupine – novonarodeným deťom. Opuzdrené typy majú na povrchu puzdro zložené z polysacharidov rôzneho chemického zloženia, na základe čoho ich rozdeľujeme na 6 typov – a, b, c, d, e, f. V nasledujúcom grafe máte incidencie (výskyt) invazívnych a neinvazívnych hemofilových infekcií spôsobených jednotlivými opuzdrenými typmi.

2) Proti ktorému typu by bolo najvhodnejšie pripraviť vakcínu vzhľadom na dopad na ľudské zdravie a život?



Potenciálne najnebezpečnejší typ určený na prípravu vakcíny je : **b**

Pri posudzovaní dopadu jednotlivých typov na ľudské zdravie je dôležitá incidencia invazívnych infekcií, keďže tie sú spojené s doživotnými komplikáciami a smrťou jedinca. Neinvazívne infekcie sú vo väčšine prípadov bez výraznejších komplikácií a preto sa posudzujú až sekundárne aj napriek vyššej incidencii.

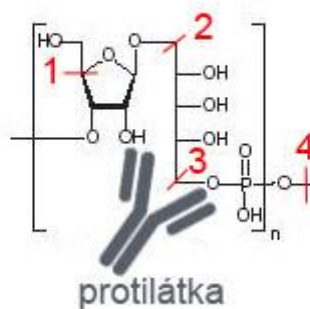
Keďže opuzdrené typy majú na povrchu polysacharidové puzdro, cieľom pre aktiváciu imunitného systému by mali byť práve tieto antigény (antigén – molekula, ktorá je rozpoznávaná zložkami

imunitného systému, v prípade vakcín najmä protilátkami). Na rozdiel od proteínových antigénov, však polysacharidové antigény (ako sú aj polysacharidy puzdra baktérií) nie sú schopné navodiť imunitnú odpoveď u malých detí do 2 rokov, preto by takéto priame použitie malo len malý alebo žiadny efekt u tejto rizikovej skupiny.

3) Ako by bolo možné obísť problém neimunogenity polysacharidov u malých detí (ide o spôsob bežne sa využívajúci vo vakcinologickej praxi)? Označte jednu správnu odpoveď.

- a) Spojenie polysacharidového antigénu s tzv. proteínovým nosičom, čo zabezpečí rozpoznanie bunkami imunitného systému**
- b) Použitie vakcíny až u detí starších ako 2 roky
- c) Spojenie viacerých rovnakých kópií polysacharidových antigénov, čo vytvorí viac miest, ktoré môžu byť rozpoznané B-lymfocytmí
- d) Pridanie molekulárnych stabilizátorov, ktoré zakonzervujú štruktúru polysacharidu, takže nemôže byť degradovaná pomocou amyláz

V nasledujúcom obrázku je zobrazená monomérna jednotka polysacharidu puzdra, proti ktorej bude vakcína stimulovať tvorbu protilátok. Ide o polyribitolfosfát (PRP), ktorý sa v puzdre vyskytuje v polymérnej forme. Keďže pre prípravu vakcíny nám stačí len jeho monomérna forma, potrebujeme PRP izolovaný z baktérií naštiepiť na kratšie formy. Na obrázku vidíte v akom mieste budú zložky imunitného systému (B-lymfocyt pri vakcinácii a následne aj samotné produkované protilátky) rozpoznávať antigén puzdra baktérie. Sivou farbou je zobrazená protilátka, ktorá rozpoznáva antigén na dvoch miestach molekuly, ktoré sú vďaka priestorovej štruktúre monoméru vo vzdialenosti, ktorá je ideálna pre jej rozpoznanie. Obidve miesta sú nevyhnutné pre rozpoznanie antigénu.

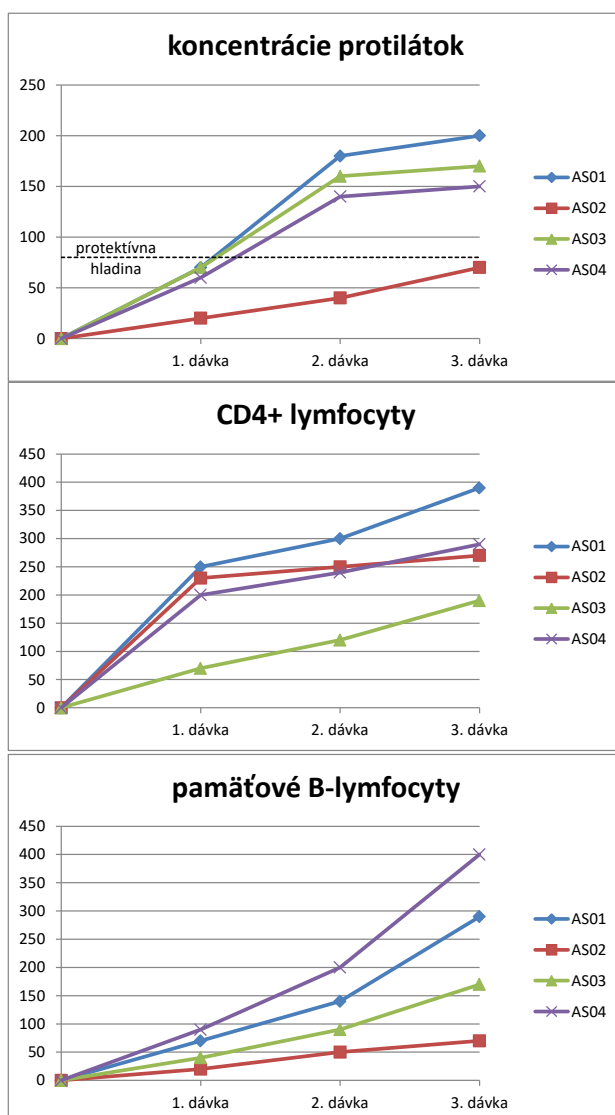


4) V akom mieste/miestach (miesta 1-4 na molekule monoméru zobrazené červenou farbou) by sme nemali štiepiť PRP, aby takéto štiepenie nemalo vplyv na rozpoznanie antigénu?

Miesta 1,2,3

Štiepenie antigénu v miestach 2 a 3 spôsobí oddelenie dvoch miest, ktoré sú dôležité pre rozpoznanie antigénu, preto je takéto štiepenie neprípustné pri príprave tohto antigénu. Rovnako štiepenie v mieste 1 spôsobí rozvinutie uhľovodíkoveho cyklu a zmenu priestorového rozloženia molekuly, čo zmení vzdialenosť medzi dvoma miestami, ktoré sú rozpoznávané protilátkou, čo taktiež znemožní rozpoznanie antigénu.

Pri prvom strete imunitného systému s antigénom (či už obsiahnutým vo vakcíne alebo pri prirodzenej infekcii) dochádza k jeho spracovaniu pomocou antigén-prezentujúcej bunky (APC). APC bunka sa následne presúva do najbližšej lymfatickej uzliny, kde ho prezentuje na svojom povrchu pomocou špecifických receptorov, čo umožní aktiváciu CD4+ pomocných T-lymfocytov. V lymfatickej uzline sa nachádzajú aj neaktivované B-lymfocyty, ktoré po aktivácii produkujú protilátky rozpoznávajúce daný antigén. Aktivácia prebieha rozpoznaním antigénu pomocou receptorov na B-lymfocyte. Ak sa aktivácie zúčastňuje aj CD4+ T-lymfocyt, dochádza nielen k aktivácii samotného B-lymfocytu a produkcii protilátok, ale ich produkcia pretrváva dlhodobo a vytvára sa tzv. imunitná pamäť, ktorá je zabezpečená vzniknutými pamäťovými B-lymfocytmi. Aktivácia B-lymfocytu pomocou CD4+ buniek je teda nevyhnutným predpokladom pretrvávania imunity po vakcinácii vďaka pamäťovým B-lymfocytom, ktoré dlhodobo zabezpečujú ochranu pred daným patogénom. Množstvo pamäťových B-lymfocytov je teda dôležitým parametrom zachovania dlhodobej profylaxie (ochrany). Aby bola imunitná odpoveď na vakcínu dostatočná, pridávajú sa k nim adjuvantné systémy, ktoré zabezpečujú dostatočné koncentrácie protilátok nad protektívnymi hladinami (protektívna hladina - minimálna koncentrácia protilátok poskytujúca ochranu pred daným ochorením), ale aj dlhodobú ochranu vďaka imunitnej pamäti. Nasledujúce grafy zobrazujú imunitnú odpoveď (koncentrácie protilátok, CD4+ aktivované lymfocyty a pamäťové B-lymfocyty) po 1., 2. a 3. dávke vakcíny proti hemofilom za použitia štyroch rozdielnych adjuvantných systémov (AS01-AS04).



- 5) Ktorý adjuvantný systém optimálne modifikuje imunitnú odpoveď po vakcinácii z hľadiska ochrany pred daným ochorením ako aj pretrvávania tejto ochrany, ktorá je esenciálna pre dlhodobú profylaxiu? Vyberte jeden.

Adjuvantný systém : **AS04**

Pre posúdenie najoptimálnejšieho adjuvantného systému sú dôležité dve vlastnosti – aby bola koncentrácia protilátok nad protektívnou hladinou (čo spĺňajú AS01, AS02 a AS04) a čím vyššie množstvá pamäťových B-lymfocytov, ktoré zabezpečujú dlhodobú ochranu. Množstvá CD4+ lymfocytov síce sú dôležité pre vytvorenie dlhodobej pamäte, avšak ich množstvá nemusia korelovať s množstvom pamäťových B-lymfocytov.

Miesto aplikácie vakcíny výrazne ovplyvňuje typ imunitnej odpovede ako aj vznikajúcich protilátok. Kým aktivácia B-lymfocytov v lymfatických uzlinách drénujúcich lymfu prichádzajúcu zo slizníc spôsobuje preferenčne vznik slizničnej imunity a slizničných IgA protilátok, aktivácia B-lymfocytov v slezine alebo lymfatických uzlinách kostrových svalov zabezpečuje vznik systémovej imunitnej odpovede a IgG protilátok.

- 6) Aké miesto a typ aplikácie by ste zvolili s ohľadom na ochranu pred najzávažnejšími hemofilovými infekciami? Označte jednu správnu odpoveď.

- a) Perorálne podanie – vakcína by sa podávala cez ústa v podobe kvapiek
- b) Pernasálne podanie – vakcína by sa podávala cez sliznicu nosa v podobe spreju
- c) Intramuskulárne podanie – vakcína by sa podávala injekčne do svalu**
- d) Inhalačné podanie – vakcína by sa vdychovala a imunizovala cez respiračný epitel

Pre ochranu pred invazívnymi infekciami je dôležitá najmä produkcia IgG protilátok.

Po stanovení zloženia a aplikácie vakcíny je nevyhnutným krokom dokázať jej bezpečnosť pre pacientov pomocou bezpečnostnej štúdie. Do štúdie ste zahrnuli 1000 novorodencov v každej sledovanej skupine, ktorým boli podané tri dávky. Sledujete výskyt jednotlivých typov nežiaducich účinkov po aplikácii s rôznymi imunogénnymi množstvami antigénu – 10, 20 a 30 µg. V nasledujúcej tabuľke je uvedený počet závažných nežiaducich účinkov v každej skupine ako aj incidenciu pre referenčnú (bežne používanú a dobre overenú) vakcínu. Vyššie množstvá antigénu sú vhodnejšie pre lepšiu imunitnú odpoveď organizmu, avšak môžu viesť k zvýšenému výskytu nežiaducich účinkov. (Anafylaktická reakcia je hypersenzitívna reakcia organizmu na antigén alebo zložku vakcíny. Guillain-Barrého syndróm je väčšinou prechodná autoimunitná reakcia, kedy protilátky generované po vakcinácii spôsobujú poškodenie myelínovej pošvy neurónov)

	10 µg (n=1000)	20 µg (n=1000)	30 µg (n=1000)	Incidencia ref. vakcína
Teplota	457	475	584	1 : 2
Začervenanie	332	320	340	1 : 3
Opuch	105	109	139	1 : 10
Zápal kĺbového puzdra	0	0	1	1 : 1 500
Anafylaktická reakcia	1	2	1	1 : 2 500
Guillain-Barrého syndróm	0	1	2	1 : 10 000

- 7) Aké množstvo antigénu je ideálnejšie použiť vo vakcíne, aby nedochádzalo k zvýšeniu nežiaducich účinkov?

20 µg antigénu

Posudzujú sa nežiaduce účinky, pri ktorých je incidencia dostatočne vysoká, aby sa v danej skupine vyskytlo postačujúce množstvo prípadov. Ak je incidencia 1:1500 a v štúdií je len 1000 jedincov, tak je výskyt nežiadúceho účinku čisto náhodný a štatisticky irelevantný.

Ďalším nevyhnutným krokom po stanovení zloženia vakcíny je určenie jej dopadu na výskyt ochorení, teda stanovenie jej účinnosti (schopnosti redukovať výskyt infekcií) pomocou klinickej štúdie. Nasledujúca tabuľka zobrazuje výskyt hemofilových infekcií pri troch rozdielnych očkovacích schémach (očkovacia schéma označuje odstup jednotlivých dávok v mesiacoch) ako aj kontrolnú skupinu, ktorá dostala irelevantnú trojdávkovú očkovaciu látku (bez hemofilového antigénu). V každej skupine bolo zahrnutých 3000 novorodencov.

	Schéma 0-1-2	Schéma 0-2-4	Schéma 0-3-6	Kontrolná skupina
Neinvazívne infekcie				
Sinusitídy	566	499	423	911
Otitídy	64	51	47	89
Invazívne infekcie				
Bakteriémie	2	1	1	7
Menigitídy	0	0	0	3

- 8) Vypočítajte celkovú účinnosť vakcíny (v percentách) pri jednotlivých očkovacích schémach pre invazívne aj neinvazívne hemofilové infekcie.

Určte, ktorá očkovacia schéma má najlepšiu účinnosť vzhľadom na dopad na ľudské zdravie a život.

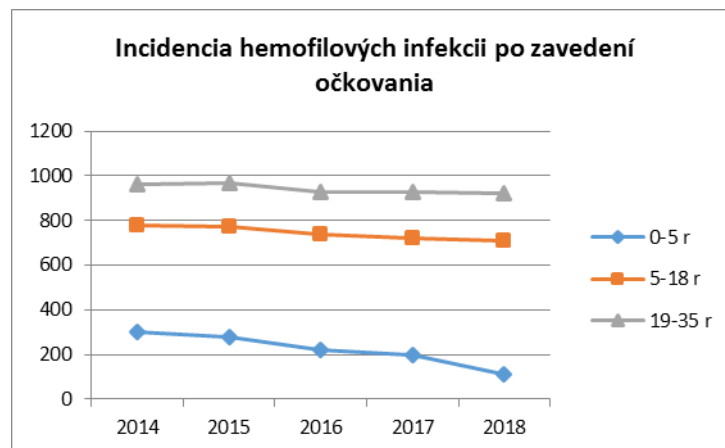
	Schéma 0-1-2	Schéma 0-2-4	Schéma 0-3-6
Účinnosť na neinvazívne inf.	37%	45%	53%
Účinnosť na invazívne inf.	80%	90%	90%

Najlepšiu účinnosť má schéma **0-3-6**

Účinnosť vakcíny vyjadruje o koľko percent dokázala vakcína znížiť výskyt daného ochorenia v populácii. Najvhodnejšia je teda schéma, ktorá mala najvyššiu redukciu hemofilových infekcií.

V nasledujúcom grafe vidíme zmenu incidencie hemofilových infekcií po zavedení očkovania u novorodencov vami stanovenou vakcínou a trojdávkovou očkovacou schémou. Očkovacia schéma

bola prvý krát zavedená v rámci rutinného očkovania novorodencov v roku 2014. Graf zachytáva incidencie hemofilových infekcií v troch rozdielnych vekových skupinách.

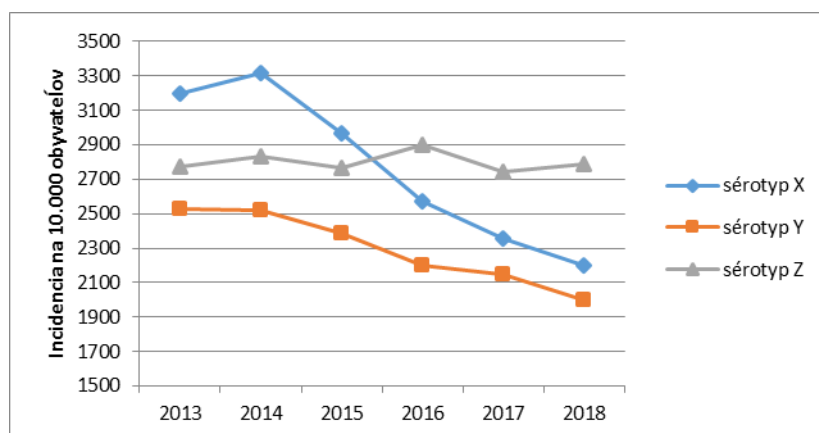


Na grafe vidíme postupný pokles incidence po zavedení očkovania od roku 2014 (kedy boli zaočkované prvé novonarodené deti) ako aj koreláciu medzi narastajúcou zaočkovanou kohortou a redukciou výskytu hemofilových infekcií vo vekovej skupine 0-5 ročných detí.

9) Ako je možné, že k redukcii hemofilových infekcií došlo aj vo vekových skupinách, ktoré neboli imunizované proti hemofilom (5-18 rokov a 19-35 rokov)?

Ide o efekt kolektívnej ochrany, kedy sa patogén vďaka zaočkovaným jedincom, ťažšie šíri v populácii v dôsledku čoho sú chránení aj jedinci, ktorí nie sú imunizovaní.

V grafe nižšie vidíme incidenciu jednotlivých sérotypov hemofilových infekcií po zavedení očkovania u novorodencov v roku 2014 (ide o výskyt hemofilových sérotypov, ktoré označíme X, Y a Z, aby nedochádzalo k ovplyvňovaniu predchádzajúcich odpovedí). Vami dizajnovaná vakcína obsahuje antigén puzdra sérotypu X. Na základe týchto údajov označte, či je dané tvrdenie správne (S), nesprávne (N) alebo sa tvrdenie na základe poskytnutých údajov nedá potvrdiť ani vyvrátiť (X). (Pozn.: v populácii nedochádzalo k vplyvu externých faktorov, ktoré by mohli meniť incidenciu jednotlivých sérotypov)



10) Odpovedzte na nasledujúce otázky S, N alebo X.

- a) Imunitná odpoveď vzniknutá po vakcinácii chráni pred sérotypom X aj Y **S**
- b) Sérotyp Z je od roku 2016 najnebezpečnejším sérotypom v populácii **X**
- c) Účinnosť vakcíny je najvyššia pri sérotype X **S**
- d) Redukcia sérotypu X umožnila zvýšený výskyt sérotypu Z **N**

Rokmi používania vakcíny v praxi sa ukázalo, že vo veľmi zriedkavých prípadoch (1 : 100 000) môže po niekoľkých dňoch po vakcinácii dôjsť k zápalu srdcového svalu. Ak by ste urobili analýzu takto postihnutého tkaniva, zistili by ste v ňom prítomnosť protilátok proti polysacharidovému puzdru hemofilov.

11) Aká je príčina takéhoto zápalu srdcového svalu po vakcinácii? Označte jednu správnu odpoveď.

- a) Protilátky vzniknuté po vakcinácii vo všeobecnosti rozpoznávajú nielen polysacharidové puzdro ale aj tkanivo srdcového svalu
- b) Zápal je spôsobený hypersenzitívnou reakciou, ide o tzv. anafylaktickú reakciu
- c) Enormne zvýšené hladiny C-reaktívneho proteínu (CRP) po imunizácii spôsobujú poškodenie neuro-muskulárnych platničiek srdcového svalu
- d) U pacienta sú prirodzené antigény v srdcovom tkanive rozdielne od tých, ktoré sú bežné u drvivej väčšiny populácie, v dôsledku čoho majú podobnosť s antigénmi vo vakcíne**

Vzhľadom k incidencii ochorenia je správna odpoveď d) Odpoveď a) je nesprávna, keďže v takomto prípade by sa tento nežiaduci účinok vyskytoval vo väčšej časti populácie.

Protilátky vznikajúce po imunizácii chránia pred patogénmi spôsobujúcimi dané ochorenie rozpoznaním antigénu a následnou aktiváciou zložiek imunitného systému alebo neutralizáciou antigénov na povrchu patogénov samotným naviazaním na jeho povrch. V závislosti od dôsledku rozpoznania antigénu protilátkami na prežívanie baktérie rozdeľujeme protilátky na bakteristické a baktericídne. Kým baktericídne spôsobujú elimináciu patogénu, tie bakteristické len utlmujú ich množenie.

12) Označte či dané tvrdenie platí pre baktericídne (C) alebo bakteristické protilátky (S).

- a) koncentrácia protilátok nad protektívnu hladinu môže viesť k nosičstvu ochorenia **S**
- b) rozpoznanie antigénu protilátkou aktivuje komplementový systém **C**
- c) protilátka rozpoznáva receptor na povrchu baktérie, ktorý je dôležitý pre vytvorenie biofilmu **S**
- d) protilátka po naviazaní interaguje s receptorom na makrofágoch **C**

ODPOVEDE PREPÍŠTE DO ODPOVEĎOVÉHO HÁRKU, KTORÝ ODOVZDÁTE PO SKONČENÍ.

ODPOVEĎOVÝ HÁROK

otázka 1	a)	b)	c) (2b)	d)		
otázka 2	a	b (3b)	c	d	e	f
otázka 3	a) (2b)	b)	c)	d)		
otázka 4	1 (1b)	2 (1b)	3 (1b)	4		
otázka 5	AS01	AS02	AS03	AS04 (3b)		
otázka 6	a)	b)	c) (2b)	d)		
otázka 7	10 µg	20 µg (4b)	30 µg			
otázka 8				0-1-2	0-2-4	0-3-6
	Účinnosť na invazívne inf.			37% (1b)	45% (1b)	53% (1b)
	Účinnosť na neinvazívne inf.			80% (1b)	90% (1b)	90% (1b)
	Najlepšiu účinnosť má schéma:				0-3-6 (1b)	
otázka 9	Ide o efekt kolektívnej ochrany, kedy sa patogén vďaka zaočkovaným jedincom, ťažšie šíri v populácii v dôsledku čoho sú chránení aj jedinci, ktorí nie sú imunizovaní. (4b)					
otázka 10	a) S (1b)	b) X (1b)	c) S (1b)	d) N (1b)		
otázka 11	a)	b)	c)	d) (2b)		
otázka 12	a) S (1b)	b) C (1b)	c) S (1b)	d) C (1b)		

SPOLU 40 bodov.

Praktická úloha č. 2

Botanika nižších rastlín

Téma: Anatómia, fyziológia a ekológia rozsievok (*Bacillariophyceae*)

Odber vzoriek:

Vzorky bentosu by mali byť odobraté z potoka alebo rieky, prípadne vodnej nádrže. Na odber je najlepšie použiť plastovú skúmavku (50 ml, dá sa kúpiť v lekární), prípadne sklenú skúmavku alebo menšiu kadičku. Pri odbere je najvhodnejšie vybrať z vody väčší kameň, ktorý má na ponorenej časti hnedý sliz. Na zoškrabnutie slizu možno použiť priamo skúmavku, vzorku je možné rozriediť vodou z vodného zdroja. Alternatívne je vhodné niekoľko ponorených kameňov vyzbierať z dna a nad nádobou ich dôkladne oškrabať kefkou do nádoby s malým množstvom vody. Ak nie sú k dispozícii kamene, ako zdroj vzorky sa dá použiť aj vybetónovaný okraj toku, v krajnom prípade aj ponorené drevo. Ak nie je možný iný typ odberu, možno vzorku odobrať aj nabratím jemného substrátu z povrchovej vrstvy na dne. V ideálnom prípade by sa do skúmavky malo dostať čo najmenej makroskopického materiálu, ako drevo, piesok alebo hrubý detrit zo dna – všetky väčšie znečistenia budú prekážať v príprave preparátu. Kontrolný odber by mal byť urobený najmenej týždeň pred konaním praktickej úlohy, pričom učiteľ vopred skontroluje prítomnosť rozsievok v odobratých vzorkách – ideálne je vyskúšať viacero metód a miest odberu, aby ste našli vzorky, v ktorých je najviac rozsievok. Pred samotnou úlohou by mali byť odobraté čerstvé vzorky, ktoré by mali byť skladované max. 24 hodín v chladničke.

Na prípravu vzoriek pre študentov je potrebné odobratú vzorku rozdeliť do skúmaviek, najmenej 1 ml pre každého študenta. Vzorky pre študentov je potrebné pripraviť aspoň dve hodiny pred konaním experimentu, aby mal detrit čas sedimentovať. Potrebné zväčšenie, pri ktorom bude rozsievky dobre vidno, je 200 – 400x (40 alebo 100x nie je postačujúce).

Počas experimentu bude potrebné, aby po každom zakreslení pedagogický dozor overil a do zadania praktickej úlohy vyznačil, či zakreslené bunky študent skutočne vidí aj v mikroskope. Študenti majú v pokynoch upozornenie, že pedagogický dozor musia privolať. V prípade, že študent nedokáže nákras podložiť pozorovaním, nemožno za takýto nákras udeliť žiadne body ani ho považovať za relevantný vzhľadom na určovanie do rodu (úloha 2).

1. úloha

správne pripravený a zaostrený preparát (kontrola pedagogickým dozorom).....5 bodov

2 body za správnu prípravu preparátu – nie nadbytok tekutiny, žiadne vzduchové bubliny v zornom poli; 1 bod za zvolenie správneho zväčšenia, pri ktorom jasne vidno bunky rozsievok (200 – 400x); 2 body za správne zaostrenie na bunky)

Pedagogický dozor **v žiadnom prípade** nesmie pomáhať študentom so zaostrením preparátu.

Správne zväčšenie uvedené pri nákrese.....2 body

Správny popis a nákras preparátu.....10 bodov

2 body za dobrý nákras – nákras ceruzkou/pastelkami, dostatočne veľké bunky, jasné štruktúry – za ktorýkoľvek nedostatok treba strhnúť celý bod. **2 body** za nákras, ktorý obsahuje najmenej 4 rôzne

druhy rozsievok (pozorovanie musí byť skontrolované pedagógom – úspešnú kontrolu uveďte do do tabuľky v zadani praktickej úlohy). Popis aspoň jednej zakreslenej riasy by mal obsahovať označenie chloroplastu, stredovej ryhy (rafé) a rýh po obvode schránky (**každé po 2 body**), prípadne aj správne označenie olejovú kvapku/miesto uloženia zásobnej látky (nepovinné). 1 bod treba strhnúť za označenie jadra (nebude viditeľné), ďalší bod za označenie ďalších subcelulárnych komponentov, ktoré nemôžu byť viditeľné v mikroskope. 2 body treba strhnúť za označenie iných rias ako rozsievok (rooznateľné podľa zelených pigmentov, bičikov).

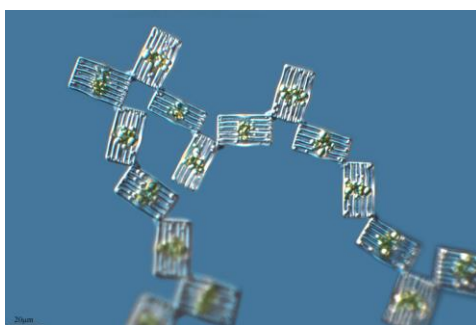
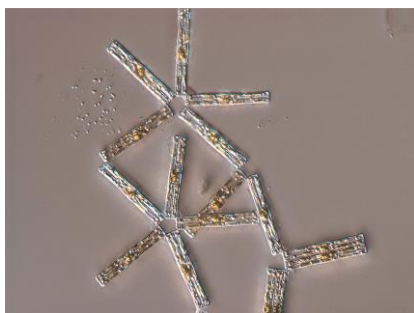
2. úloha

Za každý správne určený druh: 2 body

Za správnu a úplne kompletnú postupnosť krokov: 1 bod pre každý druh

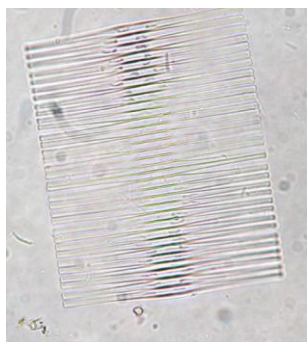
Tabellaria sp.

Postupnosť krokov: 1 - 2a



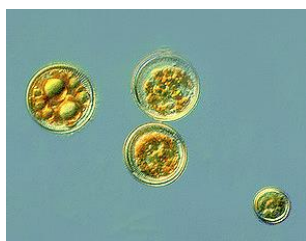
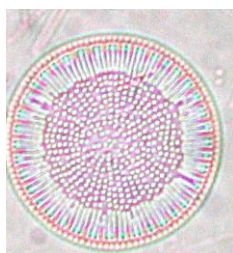
Fragilaria sp.

Postupnosť krokov: 1 - 2b



Cyclotella sp.

Postupnosť krokov: 1 – 3a – 4a



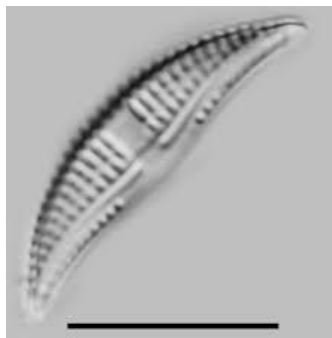
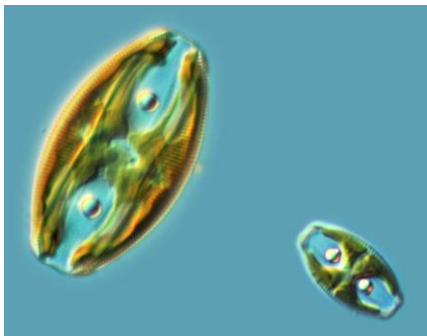
Cocconeis sp.

Postupnosť krokov: 1 – 3a – 4b – 5a



Amphora sp.

Postupnosť krokov: 1 – 3a – 4b – 5b



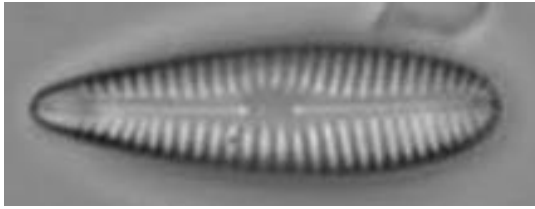
Cymatopleura sp.

Postupnosť krokov: 1 – 3b – 6a



Roicosphenia sp.

Postupnosť krokov: 1 – 3b – 6b – 7a



Navicula sp.

Postupnosť krokov: 1 – 3b – 6b – 7b – 8a



Nitzschia sp.

Postupnosť krokov: 1 – 3b – 6b – 7b – 8b – 9a



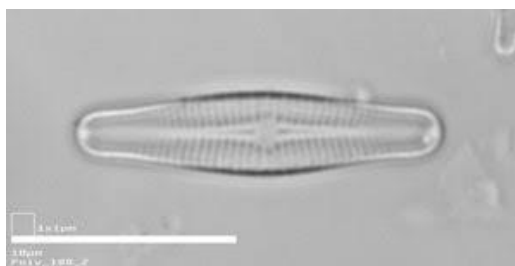
Pinnularia sp.

Postupnosť krokov: 1 – 3b – 6b – 7b – 8b – 9b – 10a



Achnanthidium sp.

Postupnosť krokov: 1 – 3b – 6b – 7b – 8b – 9b – 10b



3. úloha

a) euryekný: *Achnanthidium minutissimum* alebo *Navicula reichardtiana*.....1,5 bodu

 stenoekný: *Cyclotella wuethrichiana* alebo *Pseudostaurosira robusta*.....1,5 bodu

b) 7, 4, 6.....3 body

c) *Nitzschia inconspicua*, *Cyclotella wuethrichiana*, *Pseudostaurosira robusta*.....3 body

d) A, B, E.....3 body

4. úloha

a) D.....2 body

b) B..... 2 body

c) B..... 2 body

d) C..... 2 body

5. úloha

B, D.....2 body

SPOLU 45 bodov

Literatúra:

Fidlerová D. a Hlúbiková D. (2016): Relationships between benthic diatom assemblages' structure and selected environmental parameters in Slovak water reservoirs (Slovakia, Europe). Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems 417:27

Tréguer P. a kol. (2018): Influence of diatom diversity on the ocean biological carbon pump. Nature Geoscience 11:27 – 37

Timmermans, K. R. a kol. (2004): Growth rates, half-saturation constants, and silicate, nitrate, and phosphate depletion in relation to iron availability of four large, open-ocean diatoms from the Southern Ocean. *Limnology and Oceanography* 49(6): 2141 – 2151.

Thametrakoln, K., and Hildebrand, M. (2007) Analysis of *Thalassiosira pseudonana* silicon transporters indicates distinct regulatory levels and transport activity through the cell cycle. *Eukaryotic Cell* 6(2): 271 – 279.

Zdroje obrázků:

commons.wikimedia.org

craticula.ncl.ac.uk

diatoms.org

https://c1.staticflickr.com/5/4288/35303959921_e1c2e2906e_b.jpg

https://c2.staticflickr.com/4/3104/3141592969_5f2f7232b2_z.jpg?zz=1

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/89/Amphoraovalis.jpg>

https://c1.staticflickr.com/5/4011/4317367364_d196c8fe8f_b.jpg

https://c2.staticflickr.com/4/3315/3192585364_b30e618d54_z.jpg?zz=1

Odpověďová tabulka

Číslo	A	B	C	D	E	Body
1.	C	S				2
2.	x			x		2
3.	E	C	C	E		2
4.		x				1
5.		x				2
6.	x	x		x		1,5
7.	x	x			x	1,5
8.	x		x			2
9.	4	5	1	2	3	2,5
10.		x				2
11.	x	x	x	x		2
12.			x			2
13.		x				2
14.	I.C, II.A					1+1
15.	1	2				1
16.	x					2
17.				x		2
18.				x		2
19.	x	x		x		3
20.		x	x			2
21.		x	x			2
22.					x	2
23.		x	x			2
24.	x					2
25.	12,5 %					2
26.				x		2
27.	x			x		2
28.			x			2
29.	3	2	2	1	3	2,5
30.					x	2
31.				x		2
32.	II	I	IV	III		2
33.				X		2
34.		X	X			2
35.			X			2
36.	I.A. 1,09; I.B. 1,33; II. B					3
37.		x	x			2
38.		x				2
39.	II	III	IV	I	V	2,5
40.	zníží	zvýší	zvýší			1,5
						80

Praktická úloha č.1

Autor: Mgr. Tomáš Augustín

Recenzia: Mgr. Zuzana Dzirbíková, PhD.

Praktická úloha č.2

Autor: Mgr. Katka Juríková, PhD.

Recenzia: Oliver Pitoňak

Test

Autori: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD., Mgr. Zuzana Dzirbíková, PhD., Mgr. Tomáš Augustín, PhD., Mgr. Katarína Juríková, PhD., Mgr. Jaroslav Ferenc, Bc. Lukáš Janošík, Mgr. Filip Červenák, PhD., Ján Hunák, Oliver Pitoňak,

Recenzia: Mgr. Zuzana Dzirbíková, PhD., prof. RNDr. Peter Fedor, PhD.

Test zostavil: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD.

Redakčná úprava: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD.

Slovenská komisia Biologickej olympiády

Vydal: IUVENTA Slovenský inštitút mládeže, Bratislava 2019