

# 2013 年第廿四屆國際生物奧林匹亞競賽 -- 實驗試題(II)

中華民國生物奧林匹亞競賽代表團

## 實驗二：植物生理學、形態學及生態學

總分：88 分，總操作時間：90 分鐘

### 材料及器材

#### 第一部分

##### 【植物材料】

- 6 x 25 $\mu$ l 植物萃取液 [WT light, WT dark, sex1 light, sex1 dark, pgm1 light, pgm1 dark]

##### 【溶液及藥品】

溶液及藥品	溶液及藥品
1.5 ml “Master mix” [MM] 作用混合液	200 $\mu$ l G6PDH [G6PDH]
1 ml NADH solution 500 $\mu$ M [NADH]	10 ml H <sub>2</sub> O [H <sub>2</sub> O]

##### 【器材】

器材	器材
50 $\mu$ l-200 $\mu$ l 微量吸管 (可用至 20 $\mu$ l)	廢棄物筒
96 孔樣本分析盤 (請勿觸碰盤的底部)	2 張空白計算紙
1 個裝有品系 3 的微量離心管[T3]	通知監試人員用的旗子

#### 第二部分

##### 【植物材料】

- 8 管已去掉色素的植物 [A, B, C, D, E, F, G, H]

##### 【溶液及藥品】

- 10 ml Lugol's 溶液

#### 第三部分

##### 【植物材料】

- 樣本瓶中，浸泡於 70%酒精的 5 種不同的花標本 [V, W, X, Y, Z]
- 花的彩色照片(V-Z)

**【器材】**

器材	器材
1 台解剖顯微鏡	2 支牙籤
1 支刀片	1 個裝水的塑膠盤
1 支鑷子	

**實作**

**第一部分：植物萃取液的葡萄糖含量測定(44 分)**

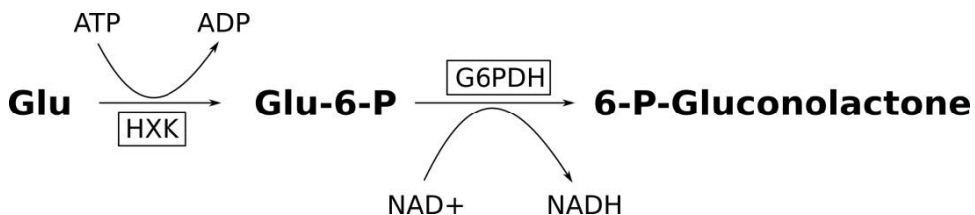
在足夠的光照下，植物可藉光合作用將空氣中的 CO<sub>2</sub> 合成碳水化合物。一部分光合作用產物運送至細胞質液中然後轉形可溶性葡萄糖；另一部分則留在葉綠體內轉為澱粉暫時儲存。此澱粉隨後可被分解或移動，以提供在黑暗期所需的碳及能量。

阿拉伯芥有多種不能合成或分解澱粉的突變株。本實作中，有兩種突變株以及野生型 [WT]的萃取液如下。

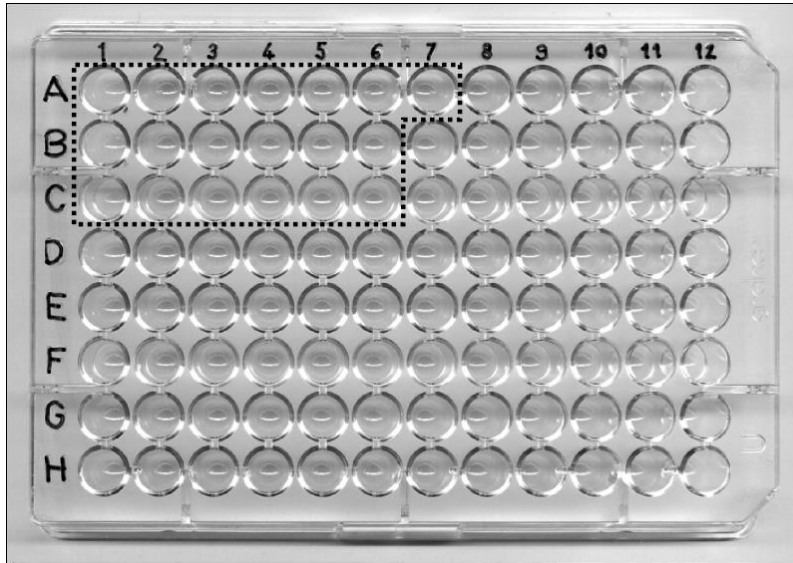
1. WT：野生型
2. sex1：分解澱粉的突變株
3. pgm1：合成澱粉的突變株

所有植物皆先在每天 8 小時光照及 16 小時黑暗下種植 4 週，然後置於全暗處理 48 小時(“dark”)，或是置於光處理 10 小時(“light”)，即採收植物進行萃取。

你將藉由測量的 NADH 吸光值來計算這幾種植物萃取液的葡萄糖含量。反應式如下所示：在此兩階段的反應中，每分子的葡萄糖在 hexokinase 酵素(HXK)以及葡萄糖-6 磷酸-去氫酶(G6PDH)的作用下，1 分子的 NAD<sup>+</sup>可轉成 1 分子的 NADH。而藥品 “Master mix”[MM]作用混合液中含有 NAD<sup>+</sup>, HXK 及 ATP。



使用 96 孔樣本分析盤(如下圖)來操作實驗，注意只能碰觸盤的邊緣！盤上的行列已分別依序編號(1-12)及英文字母(A-H)，僅使用操作步驟所列的孔(如圖中虛線範圍內)。



### 1.1 : 校正曲線 (13.5 分)

為了由測得 NADH 的吸光值換算成葡萄糖，首先你須用不同濃度的 NADH 來作一個校正曲線。下表是以 500  $\mu\text{M}$  的 NADH 原液稀釋為各指定濃度的溶液達 200  $\mu\text{l}$ ，分別計算需要多少  $\mu\text{l}$  的原液及水，並將數值填入表中。然後以微量吸管吸取所需的原液及水量分別置於樣本分析盤對應的孔(A1-A7)中，並上下吸放三次，以將溶液混合均勻。(計算 3 分+原始值測量 10.5 分)

Well	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
<b>Q1</b> [NADH] ( $\mu\text{M}$ )	0	50	100	150	200	250	300
500 $\mu\text{M}$ NADH solution ( $\mu\text{l}$ )							
H <sub>2</sub> O ( $\mu\text{l}$ )							

### 1.2 : 葡萄糖含量(原始值測量 15 分)

為確定不同植物萃取液的葡萄糖含量，你須為每一種植物萃取液配製兩種溶液。B1-B6 孔作為測量吸光值所需的空白對照，而 C1-C6 孔則是含有 G6PDH 溶液。依照以下步驟吸取溶液分別置於 B1-B6 孔及 C1-C6 孔中。

1. 分別吸 100  $\mu\text{l}$  的“Master mix”作用混合液於 B1-B6 孔及 C1-C6 孔中
2. 分別吸 20  $\mu\text{l}$  的水於 B1-B6 孔中  
分別吸 20  $\mu\text{l}$  的 G6PDH 溶液於 C1-C6 孔中
3. 下表為不同孔中所應加入 80  $\mu\text{l}$  的植物萃取液，然後上下吸放三次，以將溶液混合均勻。

Wells	B1 and C1	B2 and C2	B3 and C3	B4 and C4	B5 and C5	B6 and C6
Plant extract	WT light	WT dark	sex1 light	sex1 dark	pgm1 light	pgm1 dark

接著讓混合液在室溫中靜置作用 20 至 60 分鐘(至少 20 分鐘)。然後將旗子插入左側隔牆上的管中，以通知監試人員，他將幫你測量每一孔在 340 nm 下的吸光值，並印出數據給你。這些數據將用於試題 1.3 的分析。

注意：由於讀取樣本分析盤的儀器數量有限，在你插旗通知後，你可能需要等 15 分鐘才輪到你的分析盤被測。等待時，你可繼續作答第二及第三部分。

### 1.3：數據分析 (15分)

重要：在列印紙上寫英文姓名及學生編號，在實作結束後，將它放入裝測驗紙的信封中。

#### 1.3.1 校正曲線

$$\epsilon_S = \epsilon \cdot l = \frac{A_C - A_0}{C_{NADH}}$$

用各 NADH 濃度及其吸光值，代入公式算出校正係數，公式中的  $A_0$  為空白對照 (0  $\mu\text{l}$  NADH 即 A1 孔) 的吸光值， $A_C$  是在特定 NADH 濃度下的吸光值。而  $\epsilon_S$  校正係數相當於消失係數  $\epsilon$  乘上透過溶液的光波波長( $l$ )。在答案空格中填入數值(計算至小數點後第五位)。(3 分)

	Well	A2	A3	A4	A5	A6	A7
Q2	[NADH] ( $\mu\text{M}$ )	50	100	150	200	250	300
	$\epsilon_S(\mu\text{M}^{-1})$						

計算所有校正係數的平均值  $\bar{\epsilon}_S$ ，並將數值填入答案空格中(計算至小數點後第五位)。(1 分)

Q3	$\epsilon_S(\mu\text{M}^{-1})$	
----	--------------------------------	--

#### 1.3.2 植物萃取液的葡萄糖含量

$$C_{glucose} = \frac{A_{G6PDH} - A_{H2O}}{\bar{\epsilon}_S}$$

根據公式計算每孔(稀釋後的植物萃取液)的葡萄糖含量。公式中的  $A_{G6PDH}$  是與 G6PDH 作用(C1-C6 孔)之樣本的吸光值， $A_{H2O}$  是只有和水作用(B1-B6 孔)之樣本

的吸光值，而  $\bar{\epsilon}_S$  是前面所得之校正係數的平均值。然後用這些數值來計算當初在新鮮葉片中的葡萄糖含量(mmol/g)；每種植物萃取液是以每公升中有 25 克的葉片而製得，將你計算出的結果填入下表中。(7 分)

	Sample	Concentration in well ( $\mu\text{M}$ )	Content in leaves (mmol/g)
Q4	WT light		
	WT dark		
	sex1 light		
	sex1 dark		
	pgm1 light		
	pgm1 dark		

### 1.3.3 解釋你的結果

根據結果判斷下列敘述的真偽，並以  $\checkmark$  作記。(4 分)

	true真	False偽	
Q5	植物萃取前進行光處理者比暗處理者含有較多的葡萄糖		
	暗處理的植物已將黑暗期的碳水化合物能量用完了		
	在光處理後之野生株中，其葡萄糖含量比在暗處理者低		
	light”兩樣本的葡萄糖含量比“WT light”樣本高		
	樣本的葡萄糖含量比 the “pgm1 light” 樣本高		
	野生株在光處理及暗處理後的葡萄糖含量差異程度較兩種突變株高		
	sex1突變株長得比 pgm1突變株快		
	為修正植物本身的6-P-Gluconolactone濃度的影響，必須測量未加 G6PDH的樣本		
	植物葉片中的 NADH濃度與葡萄糖濃度呈比例關係 (此部分刪除)		

### 第二部分：存澱粉的染色 (9 分)

在經過以酒精去色的葉片中，暫存澱粉可藉由含有碘的 “Lugol’s solution” 染色而輕易辨識。在實驗桌上有兩組植物樣本(如下)

GROUP I	A	B	C	D
GROUP II	E	F	G	H

一組植物在光處理 12 小時後採收，而另一組則是在黑暗處理 12 小時後採收。每組都至少有一棵野生株(WT)、一棵澱粉分解突變株(*sex1*)及一棵澱粉合成突變株(*pgm1*)。對每種植物(A-H)重複相同染色步驟

1. 將植物標本移到乾淨的培養皿上
2. 用滴管吸去培養皿中多餘的液體
3. 用滴管吸取“Lugol’s solution”加幾滴在植物上
4. 室溫下靜置 1 分鐘後，觀察結果

記下在兩組待觀察植物葉片的顏色，以√ 在適當的空格中作答。(4 分)

Group I				Group II			
Plant	淡橘色	深棕色	深黑色	Plant	淡橘色	深棕色	深黑色
Q6	A			E			
	B			F			
	C			G			
	D			H			

根據待觀察植物及其染色情形，分別判斷兩組的生長狀態，以√ 在適當的空格中作答。(1 分)

		生長狀態	
		光處理 12 小時	暗處理 12 小時
Q7	Group I		
	Group II		

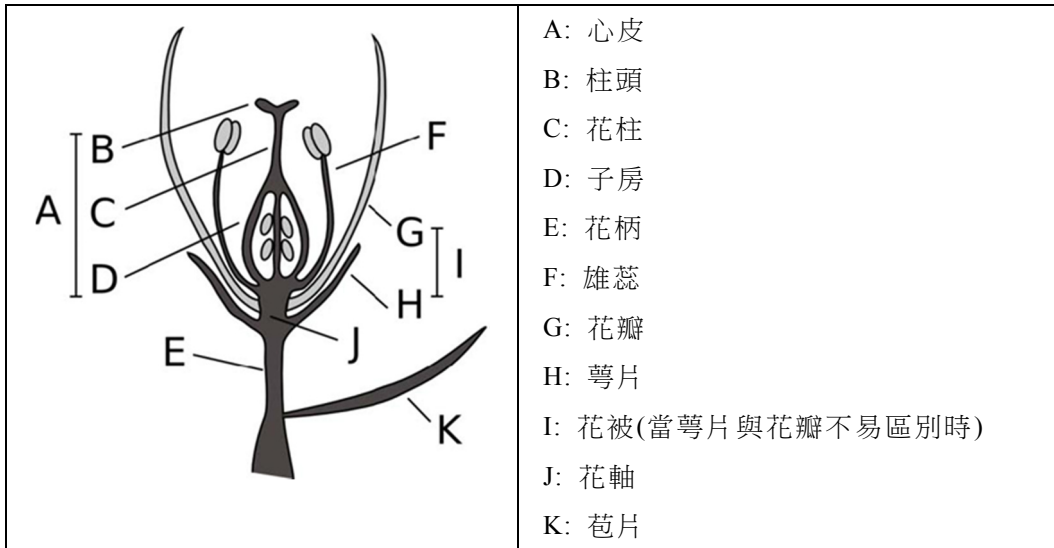
根據待觀察植物及其染色情形，分別判斷每種植物樣本的品系，以√ 在適當的空格中作答。(4 分)

		品系		
Group	Plant	WT	Sex1	Pgm1
Q8	I	A		
		B		
		C		
		D		
II	E			
	F			
	G			
	H			

### 第三部分：花的形態及授粉生態(35.5 分)

在構造、形狀及生態功能上，被子植物的花極為多樣。一朵花的不同部位之數目、形狀及位置通常是判斷親緣關係的依據，而功能性特徵(例如花的共通外形)則多受到一些生態因子(如授粉方式)所影響。在本部分，你將檢視五種不同花的標本(V-Z)之形態特徵，並與其授粉作用作連結，以判斷其生態特性。

為便於使用名詞，下圖為一朵花的不同部位之對應代號。



#### 3.1:花的形態

這些以酒精保存的花標本(V-Z)為瑞士的常見植物，可能包含一朵花或一整個花序。每種標本都是兩性花(一朵花中同時包含雌性及雄性構造)。每種植物的生長習性、形態及花色則如彩色照片所示。

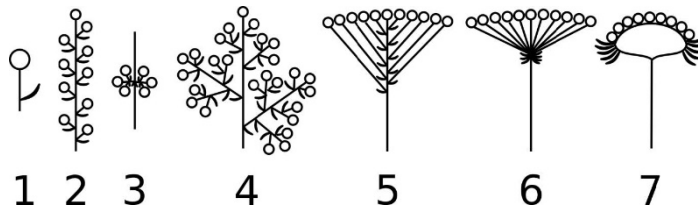
對每個標本(V-Z)作一系列的形態觀察，建議你先完成一個標本的所有觀察項目，再看下一個標本。

從標本瓶中取出標本，置於裝水的培養皿中，以利觀察。並關緊瓶蓋，以免酒精揮發。小心操作並避免破壞花標本，以利後續的觀察。若標本中含有多朵花，取一朵花來觀察特定部位；而且你可能需要多朵花，以便觀察某特定部位，因為有些部位(特別是雄蕊及雌蕊)可能需在成熟過程中的特定階段才容易觀察。

使用解剖顯微鏡觀察細微構造，你可能需要使用工具(刀片、鑷子及牙籤)來解剖花，請在培養皿中進行所有解剖動作。

##### 3.1.1 花序類型

下圖為不同類型的花序示意圖。每個小圓圈代表一朵花、且通常配有一個苞片。



判斷每種標本(V-Z)的花序類型，並在適當空格中打勾(√)。(2.5 分)

		V	W	X	Y	Z
Q9	Inflorescence type 1					
	Inflorescence type 2					
	Inflorescence type 3					
	Inflorescence type 4					
	Inflorescence type 5					
	Inflorescence type 6					
	Inflorescence type 7					

### 3.1.2 花部位的數目

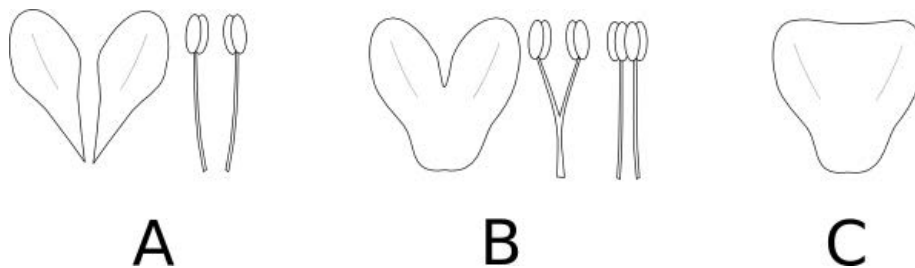
確定標本(V-Z) 一朵花中的萼片、花瓣(或花被)、雄蕊及雌蕊之數目，並在答案適當空格中填入數字。當一朵花中的某特定花部位之數目多於 10，則以">10"表示。塗黑的空格則不須回答。(11.5 分)

		V	W	X	Y	Z
Q10	萼片數目					
	花瓣或花被數目					
	雄蕊數目					
	柱頭數目(分叉的柱頭當作一個柱頭)					
	分離的子房數目					

### 3.1.3 花部位的癒合

以下圖為例，就花瓣、雄蕊或其他花部位而言，圖 A 為分離(癒合部分<10%)，圖 B 為部分癒合(癒合部分 10-90%)，圖 C 為完全癒合(癒合部分 part >90%)。



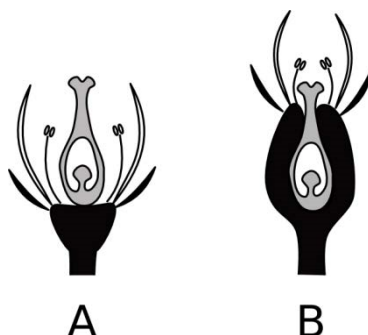


在答案表格中，分別表示出花標本 V-Z 的萼片、花瓣及雄蕊之癒合情況，在適當空格中打勾(√)。(6.5 分)

		V	W	X	Y	Z
Q11	Sepals	分離(fused part <10%)				
		部分癒合(fused part 10-90%)				
		完全癒合(fused part >90%)				
Petals / tepals	分離(fused part <10%)					
	部分癒合(fused part 10-90%)					
	完全癒合(fused part >90%)					
Stamens	分離					
	在雄蕊的基部或花藥部分癒合					
	與花瓣或花被部分癒合					
	與其他雄蕊部分癒合，且也與花瓣或花被部分癒合					

### 3.1.4 子房位置

一朵花的子房位置可分為上位(A)及下位(B)，如下圖所示。

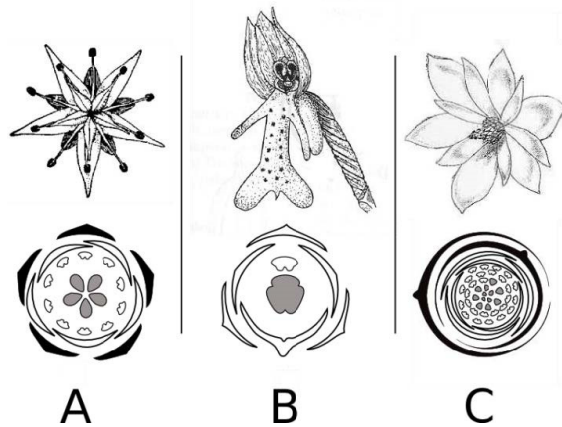


以√ 標示各種花標本 V-Z 的子房位置。

		V	W	X	Y	Z
Q12	A 上位					
	B 下位					

### 3.1.5 花的對稱性

花的對稱性可分為輻射對稱(A)、兩側對稱(B)或非對稱性(C)。下圖為舉例及花式圖。花式圖中由外而內分別代表萼片(實心的彎曲塊)、花瓣或花被(空心的彎曲塊)、雄蕊(空心圓形)及雌蕊(灰色圓形)。



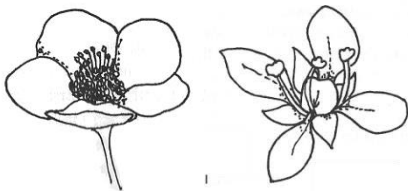
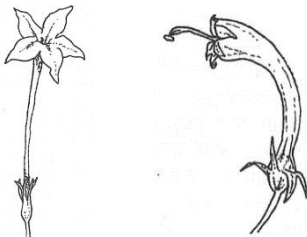
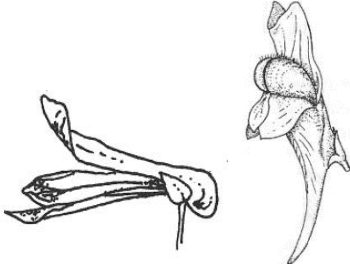
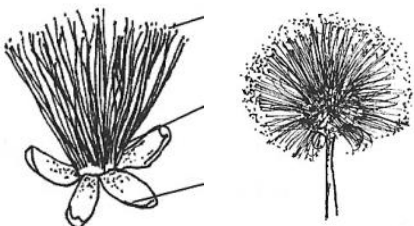
以√ 標示各種花標本 V-Z 的對稱性。

		V	W	X	Y	Z
Q13	A 輻射對稱					
	B 兩側對稱					
	C 非對稱性					

## 3.2:授粉生態

### 3.2.1 花形

花形是形態與不同授粉者行為演化出的適應結果。即使花及花序非常多樣化，大多可歸類為下表幾種類型之一。請留意：吸引授粉者的相關部位可以是一朵花或是整個花序。

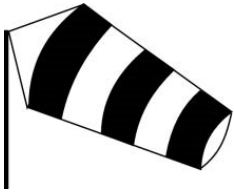



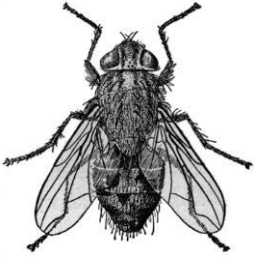
n°	花形	花或花序的圖例	共通特徵
1	開放式盤狀花		<ul style="list-style-type: none"> <li>● 花粉及/或花蜜可開放取用</li> <li>● 著陸處平坦</li> </ul>
2	輻射對稱的管狀花		<ul style="list-style-type: none"> <li>● 輻射對稱</li> <li>● 花粉及/或花蜜部分或完全隱藏在細管中</li> <li>● 管狀構造可能與其他花部位分離或癒合</li> </ul>
3	兩側對稱的管狀花		<ul style="list-style-type: none"> <li>● 兩側對稱</li> <li>● 花粉部分或完全隱藏在細管中</li> <li>● 管狀構造可能與其他花部位分離或癒合</li> </ul>
4	叢狀的花		<ul style="list-style-type: none"> <li>● 花被/花瓣 缺乏或不明顯</li> <li>● 雄蕊數目很多且明顯</li> </ul>

根據你的觀察判斷花標本 V-Z 為哪一種花形，在下表中以√ 作答。

		V	W	X	Y	Z
Q14	Floral shape 1					
	Floral shape 2					
	Floral shape 3					
	Floral shape 4					

### 3.2.2 授粉者

如下表中所示的共通授粉者，花形以及花或花序的其他特徵通常與其授粉者有密切關聯性。

n°	授粉者	授粉者特徵	花或花序的共通形狀
1	風 	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 非專一</li> <li>● 無方向性的</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 不明顯</li> <li>● 缺少具吸引性的花部位</li> <li>● 沒有花蜜及氣味</li> <li>● 大量花粉</li> <li>● 花藥及柱頭完全暴露於風中</li> </ul>
2	蜜蜂/熊蜂 	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 在白天活動</li> <li>● 咬式口器</li> <li>● 舌頭長</li> <li>● 被花粉及花蜜所吸引</li> <li>● 收集花粉</li> <li>● 可倒掛著</li> </ul>	不是~ <ul style="list-style-type: none"> <li>● 兩側對稱</li> <li>● 顏色鮮豔(通常為黃色、紫色或藍色)</li> <li>● 花蜜藏於管中</li> <li>● 提供著陸處</li> </ul> 就是~ <ul style="list-style-type: none"> <li>● 平坦</li> <li>● 顏色鮮豔(通常為黃色、紫色或藍色)</li> <li>● 提供大量花粉</li> </ul>
3	蛾 	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 夜間活動</li> <li>● 器長</li> <li>● 不需著陸處</li> <li>● 找尋花蜜</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 白或近似白色</li> <li>● 有香味</li> <li>● 在夜間開花</li> </ul>
4	蝴蝶 	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 在白天活動</li> <li>● 口器長</li> <li>● 不需著陸處</li> <li>● 找尋花蜜</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 直立向上</li> <li>● 細長管狀</li> <li>● 花蜜深藏</li> </ul>
5	蒼蠅 	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 舔吮式口器</li> <li>● 喜歡明亮平坦的表面，可以站在陽光下</li> </ul>	不是~ <ul style="list-style-type: none"> <li>● 小型且平坦</li> <li>● 無氣味</li> <li>● 花蜜可開放取用</li> </ul> 或是~ <ul style="list-style-type: none"> <li>● 呈現為棕色/紫色</li> <li>● 氣味似腐肉或排泄物</li> </ul>

下表中列出這些植物標本的其他無法觀察到的特徵(+: 具有, ++: 明顯具有, -: (幾乎) 缺乏)。

	V	W	X	Y	Z
花蜜	++	+	+	—	++
氣味	++	+	+	—	+

根據所觀察之花或花序及上表所提供的特徵，判斷每種植物標本 V-Z 的可能授粉者(對應授粉者編號)，以√在適當空格中作答。若有多個可能的授粉者，標示出所有可能答案。(5 分)

		V	W	X	Y	Z
Q15	Pollinator 1					
	Pollinator 2					
	Pollinator 3					
	Pollinator 4					
	Pollinator 5					

(待續)