
2011 年第廿二屆國際生物奧林匹亞競賽

-- 實驗試題(IV)

中華民國生物奧林匹亞競賽代表團

實作四：植物解剖, 生理及遺傳學

第一部分：植物解剖(60 分)

【器材】	數量
1. 載玻片(於工具盒中)	20
2. 蓋玻片(於工具盒中)	30
3. 光學顯微鏡(含 4X, 10X, and 40X 物鏡)	1
4. 目鏡測微器(已置入目鏡中)	1
5. 單面刀片(於工具盒中)	5
6. 培養皿(於工具盒中)	1
7. 鑷子(於工具盒中)	1
8. 拭鏡紙	1
9. 擦手紙	1
10. 垃圾桶	1

【材料】	數量
1. 二次蒸餾水(工具盒中標示為 “ddH ₂ O”).....	20 mL/vial
2. 1 N 鹽酸(HCl).....	5-10 mL/vial
3. 透明指甲油(於工具盒中).....	1 vial
4. 切片盒 K 中有植物 K 的根部永久切片標本 X, Y, and Z.....	1 slide each
5. 四格培養皿(分別放置植物 V, W, M, N, P, Q, R, S 的組織樣本).....	2 petri dishes
6. 鑑定紙(上有學生編號)用以放置你製作的切片並留作證據.....	1 sheet

Part A 植物根系結構

X, Y, and Z 三個切片標本為植物 K 根部的三個不同區域之橫切面(在切片標本上以圓圈標示)，你須在後面判斷植物 K 是單子葉或雙子葉，在顯微鏡下觀察這些橫切面並回答下列問題：

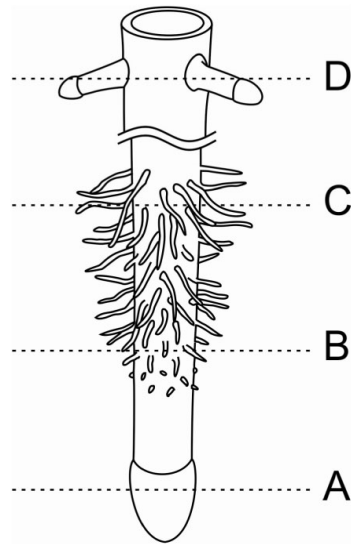


圖 1 典型的植物根尖構造

問題.1.A.1 (一個 2 分，共計 6 分)

X, Y, and Z 三個切片分別代表上方圖 1 所示的根部哪三個區域？請在答案紙上適當空格中標示 X

問題.1.A.2. (4 分)

根中的初級木質部的成熟方向為何？（較早成熟的組織→較晚成熟的組織）請在答案紙上適當空格中標示 X

Part B 植物莖的結構

分別從植物 V 及 W 的莖段切出適當厚度橫切面，放在不同的載玻片上，加一滴水並蓋上蓋玻片。在顯微鏡下觀察並回答下面問題。你須在後面判斷植物 V 及 W 是單子葉或雙子葉。當你完成此部分，將你製作的水埋玻片標本放在鑑定紙對應格上，**舉牌**請監試人員檢查並在鑑定紙上蓋章標記

問題.1.B (每種植物 3 分，全對才給分)

植物 V 及 W 的莖中維管束的分布類型為何？請在答案紙上適當空格中標示 X

Part C 植物葉片結構

先判斷植物 M 及 N 葉片的上表皮及下表皮，再回答下面問題。你須在後面判斷植物 M 及 N 是單子葉或雙子葉。當你完成此部分，將你製作的水埋玻片標本放在鑑定紙對應格上，**舉牌**請監試人員檢查並在鑑定紙上蓋章標記。

問題.1.C.1 (8 分) 觀察植物 M 的氣孔

製作葉片上、下表皮的玻片標本，你可以直接撕下所需的表皮，或用刮去不需要的部

分只留下所需的表皮。把上、下表皮分別放在不同玻片上，並將表皮面朝上，加一滴水並蓋上蓋玻片。在顯微鏡下觀察並使用目鏡測微器來測量，測微器的最小格在 4X 物鏡下大約為 $30\ \mu\text{m}$ ，在答案紙上回答下列問題

- (a) 測量上表皮的氣孔大小
- (i) 在 40X 物鏡下，測微器的最小格長度為？ μm (1 分)
- (ii) 量測 3 個保衛細胞長度，求其平均值 (3 分)
- (b) 測量下表皮的氣孔密度
- (i) 在 40X 物鏡下，視野下的面積大約為？ (1 分)
- (ii) 觀察 3 個視野並計算每個視野的氣孔數目，求其平均值 (3 分)

問題.1.C.2 (6 分，全對才給分) 植物 N 的葉片組織觀察

將透明指甲油分別塗抹在葉片的上、下表皮上面，待乾燥後，小心撕下指甲油印模，分別放在不同玻片上，並將表皮面朝上，加一滴水並蓋上蓋玻片。在顯微鏡下用適當物鏡來觀察，判斷上、下表皮的氣孔分布，並據以判斷植物 N 的生長棲地，請在答案紙上適當空格中標示 X

Part D 單子葉植物或植物的雙子葉

問題.1.D (一個 1 分，共計 5 分)

判斷植物 K, V, W, M, and N 分別為單子葉或雙子葉植物?在答案紙適當位置上作記[X]

Part E 植物細胞內的含鈣結晶

某些植物具有可形成多邊形草酸鈣或碳酸鈣結晶的液胞，請用四種植物(P, Q, R, S)的材料小心切出適當厚度的橫切切片，分別置於不同載玻片上，加一滴水並蓋上蓋玻片。在顯微鏡下觀察並檢查是否有結晶，若有，判斷結晶在組織中的分布（大部分結晶存在或缺乏於維管束細胞中），並仔細打開蓋玻片，擦掉切片旁邊多餘的水分，加數滴的鹽酸，再蓋上蓋玻片並在顯微鏡下觀察，據以判斷其結晶的類型。當你完成此部分，將你製作的水埋玻片標本放在鑑定紙對應格上，舉牌請監試人員檢查並在鑑定紙上蓋章標記

問題.1.E (答對一種具結晶的植物 6 分,全對才給分;沒有結晶的植物 2 分;共 20 分)

根據你的觀察，在答案紙的表格中填入對應的英文字母

植物：P, Q, R, S

結晶位置：A (大部分結晶在維管束細胞中)、B (維管束細胞中沒有結晶)

結晶類型：C (多邊形草酸鈣結晶)；D (碳酸鈣結晶)

當你完成第一部分的所有題目(A to E)，請在確定你是否已在每個部分被蓋過章，若無，**舉牌**請監試人員來檢查你的鑑定紙並蓋章標記(每個蓋章的玻片 0.5 分，共 5 分)。

第二部分：植物生理學和遺傳學(40 分)

【共用儀器】

ELISA reader，ELISA 光度計

【實驗器材】

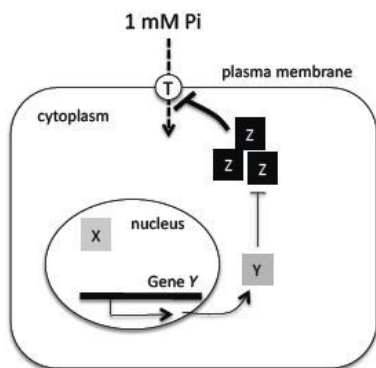
	數量
1. P200 及 P1000 微量吸管	各 1 支
2. P200 及 P1000 微量吸管尖	各 1 盒
3. 96 孔微量呈色盤	1
4. 1.5 毫升微量離心管 (用於配製標準濃度溶液，使用已標示 $0\ \mu\text{M}$, $25\ \mu\text{M}$, $50\ \mu\text{M}$, $100\ \mu\text{M}$, $200\ \mu\text{M}$, $400\ \mu\text{M}$ 的離心管)	12 (6 支備用無標記)
5. 80 孔微量離心管架 / 4 面試管架	各 1 個
6. 震盪器	1
7. 奇異筆	1

【實驗材料】

	數量
1. 磷酸基偵測溶液(標記為 Solution A)	10 毫升/管
2. $400\ \mu\text{M}$ KH_2PO_4 溶液(標記為 Solution B)	10 毫升/管
3. 二次蒸餾水(標示 ddH_2O)	50 毫升/瓶
4. 6 個待測樣品 (裝在微量離心管中，標示為 sample #1, #2, #3, #4, #5 和 #6)	

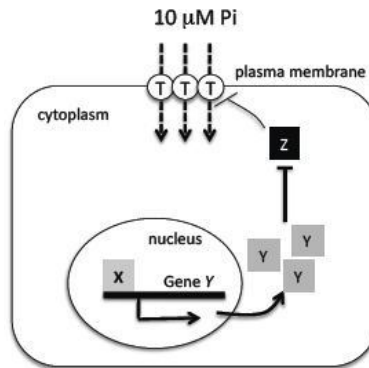
【背景介紹】

磷酸基是植物重要營養素之一，它構成細胞膜、核酸和能量分子(如 ATP)。當植物缺乏磷酸基時，其生長和發育會受到嚴重影響。植物能依據環境中磷酸基的濃度變化而調控相關基因的表現，進而改變細胞膜上磷酸基輸送蛋白的活性，藉此維持植物體內磷酸基濃度的恆定。科學家以阿拉伯芥為模式系統，發現根部細胞在磷酸基充足時(Pi-sufficient; 例如 1mM)或磷酸基缺乏時(Pi-deficient; 例如 $10\ \mu\text{M}$)的調控反應分別如圖 2 和圖 3 所示：



Pi-sufficient

圖 2



Pi-deficient

圖 3

當阿拉伯芥在磷酸基充足時 Pi-sufficient (圖 2), Z 蛋白會負向調控降低細胞膜上負責磷酸基輸入的 T 蛋白的量, 以避免過量吸收磷酸基吸收而導致毒害。反之, 當植物處於磷酸基缺乏時 Pi-deficient (圖 3), 轉錄因子 X 會強增基因 Y 的表現, Y 蛋白的量因而增加。Y 蛋白能促進 Z 蛋白的降解, 導致 T 蛋白的增加, 造成更高的磷酸基吸收效率。一般而言, 植物地上部莖葉的磷酸基含量與其根部的磷酸基吸收效率成正比。

當植物中對應 T, X, Y, 和 Z 蛋白的基因之表現量因為突變或轉殖效應而發生改變時, 其磷酸基的含量會受到明顯的影響。因之, 植物學家可以利用這些突變體或轉殖植物去探討這些參與磷酸基恆定機制的基因其功用和彼此之間的關係。

5 個不同品系的阿拉伯芥(A-E), 分別生長於 Pi-sufficient (1 mM)或 Pi-deficient (10 μ M)條件下(如表 1 所示), 其中阿拉伯芥 A 是正常型, B~E 是將特定基因剔除的突變體(T, X, Y, 或 Z, 基因功能完全喪失)或是會過量表現特定基因(T, X, Y, 或 Z)。它們的地上部抽出物樣品分別置於 6 個微量離心管中。你將測量各樣品中磷酸基的量, 並依據 Fig.2 和 Fig.3 所示調控機制去推定它們分別是屬於何種基因突變體或過量表現。每一個樣品皆來自 20 個幼苗, 其總鮮重分別列於 Table1 中, 各樣品均已用 ddH₂O 調整總體積至 10 毫升。

表 1

Sample No.	Plant	培養基中磷酸基的濃度	幼苗總鮮重
1	A	1mM	40.4
2	A	10 μ M	17.3
3	B	1mM	28.0
4	C	1mM	39.2
5	D	1mM	30.6
6	E	1mM	33.8

按照實驗步驟, 使用提供的器材和溶液去測量各樣品中磷酸基的濃度。

【實驗步驟】

1. 用 400 μ M KH₂PO₄ 溶液(Solution B), ddH₂O 和已標示的 1.5 mL 微量離心管去準備下列濃度之磷酸基溶液, 用以繪製標準濃度曲線: 0, 25, 50, 100, 200, 400 μ M。用震盪器充分混合各製備溶液, 每一標準濃度溶液至少要有 0.5 mL。使用 P200 微量吸管以新吸管尖分別取 0.1 mL 的標準濃度溶液, 依照 Figure 4 所指示(各標準濃度溶液均做重複), 將各標準濃度溶液置於 96 孔微量呈色盤。

	Standards			Samples			Standards					
A			0		#1	#1		0				
B			25		#2	#2		25				
C			50		#3	#3		50				
D			100		#4	#4		100				
E			200		#5	#5		200				
F			400		#6	#6		400				
G												
H												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

圖 4

2. 依照圖 4 所指示，分別重複取 0.1mL 的各樣品，置於 96 孔微量呈色盤。
3. 在微量呈色盤上含有標準濃度溶液或樣品溶液的孔位分別加入 0.1 mL 的磷酸基偵測溶液(Solution A)。輕觸敲微量呈色盤邊緣以混和。
4. **當你完成步驟 3 後，請舉牌**，等候實驗室助教的引導和協助去使用 ELISA 光度計量測反應產物在 820nm 的吸光度。
5. 實驗室助教會印出你的測量數據，請將你的學生代碼貼在印出之數據紙上。
6. 回答以下問題：

問題.2.1. (共 18 分)

分別計算各樣品及標準濃度溶液平均值，使用答案卷上的方格紙畫出標準曲線。**(每個正確的標準濃度點得 0.5 分)**

決定樣品#1~#6 的磷酸基濃度(以 μM 表示)和幼苗單位鮮重中磷酸基的含量(以 nmole/mg 表示)，將你的答案寫在答案卷上的表中。**(每個磷酸基濃度得 2 分，每個磷酸基含量 nmole/mg 得 0.5 分)**

問題.2.2. (複選題，4 分，所有答案都正確才得分)

對於那些磷酸基含量(nmole/mg)比正常型高的植物，請判定下列各敘述是正確(true)或錯誤(false)的解釋，用[X]在答案卷上標記正確答案。

- (A) X 蛋白在此植物中不能被活化，導致磷酸基吸收的增加。
- (B) Y 基因在此植物中失去功能，造成磷酸基吸收的增加。
- (C) Z 基因在此植物中失去功能，造成磷酸基吸收的增加。

- (D) 此植物具有一轉殖基因會過量表現 Y 基因，使 T 蛋白不能被抑制，導致較高的磷酸基吸收能力。
- (E) 此植物的 T 蛋白有缺失，不能有效吸收磷酸基。
- (F) 此植物的轉錄因子 X 有突變，不能結合至 Y 基因的啟動子。

問題.2.3. (每題 2.5 分，共 10 分)

根據實驗所得結果，將 B,C,D,或 E 植物分別配合至答案卷上的各正確敘述。

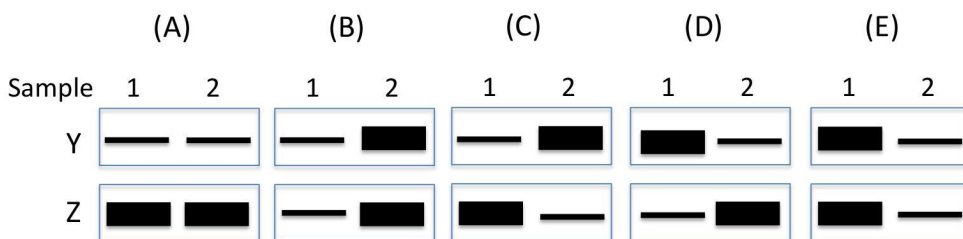
問題.2.4. (單選題，4 分)

如果讓正常型植物(W)，X 基因剔除突變體(X)，和 Y 基因剔除突變體(Y)都種在同一磷酸基缺乏(Pi-deficient)條件下，它們地上部的磷酸基含量的順序為何(從低到高排列)? 用[X]在答案卷上標記正確答案。

- (A) $X < W < Y$
- (B) $Y < W < X$
- (C) $W < X < Y$
- (D) $W < Y < X$
- (E) $X < Y < W$
- (F) $Y < X < W$

問題.2.5.(單選題，4 分)

西方墨點法是一種利用抗體偵測特定蛋白質含量的技術。以西方墨點法分析樣品#1 和#2 的蛋白質抽出物中 Y 蛋白和 Z 蛋白，則可能的結果為何? 用[X]在答案卷上標記正確答案。



(完)