

# 2006 年第十七屆國際生物奧林匹亞競賽 -- 實驗試題(1)

## 中華民國生物奧林匹亞競賽代表團

### 實驗一：植物解剖、分類及生理

在這項實作，你必須綜合高等植物之形態學，分類和生理等方面的操作結果。

#### 【目標】

- A) 鑑定並比較各營養器官
- B) 鑑定不同分類群
- C) 將葉片解剖構造應用到光合作用過程的路徑

#### 【材料】

- 5 項材料(編號 1-5)
- 5 片載玻片
- 5 片蓋玻片
- 1 支刀片
- 標示玻璃用的筆
- 1 支鑷子
- 2 支解剖針
- 1 個滴瓶(內含水及甘油)
- 1 個培養皿(含染木質素的染料)
- 1 個培養皿(含蒸餾水)
- 1 台顯微鏡
- 圖 1 為葉片細微構造圖(另附)

#### 【操作過程】

- 操作材料 1 的橫切

- 把切片放入染木質素的 Safranin 染料中
- 把切片放入含蒸餾水之培養皿中，除去過多的染料。
- 把切片放在載玻片上，滴一滴水和甘油溶液，並蓋上蓋玻片。

重複以上操作過程，完成其他的材料切片製作。

以顯微鏡觀察你製作的組織切片。記得由低倍觀察至 40x 物鏡。

在檢視各材料及你製作的組織切片後，回答以下問題：

#### 問題 1：

把器官代碼填入適當空格(7.5 分)

代碼

01 莖

02 根

03 葉

04 根莖

Sample	1	2	3	4	5
代碼					

#### 問題 2：

鑑定出每個材料所屬的分類群，把材料號

碼填入適當空格(5 分)

分類群	材料號碼
銀杏植物門	
松柏植物門	
蘇鐵植物門	
被子植物門 - 雙子葉植物	
被子植物門 - 單子葉植物	

**問題 3 :**

內皮是一層具有重要生理角色的細胞。在可觀察到此細胞層的材料之空格中標示

“X”。(2 分)

材料	1	2	3	4	5

**問題 4 :**

植物可分化出厚角組織及厚壁組織，作為支持組織。兩種組織具特別的細胞特性可供區別。選出具有厚角組織的材料號碼。

(2.5 分)

- a) 1, 2, 3
- b) 4, 5
- c) 4
- d) 2
- e) 1, 4

**問題 5 :**

仔細檢查圖 1 之葉片解剖構造，回答以下問題。(4 分)

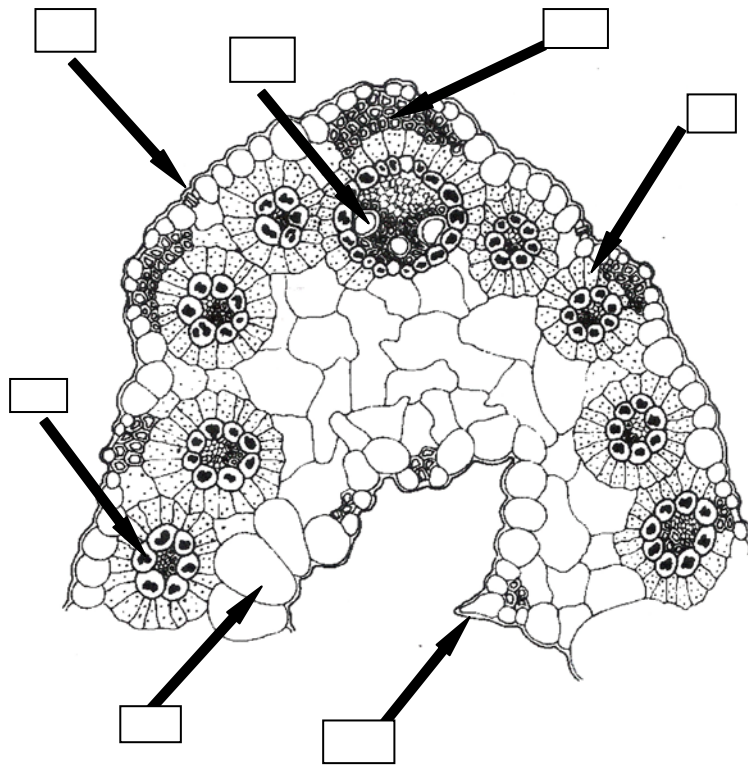


圖 1、葉片解剖構造

此葉片構造是否能與先前切的一些器官相符，並且是相同的植物的一部分嗎？把答案圈選出來。

YES                      NO

如果答案是肯定的，以“X”在對應的材料上作標示。

材料	1	2	3	4	5

**問題 6：**

顯微照片的詳細葉片構造顯示如圖 2(另附)。選擇符合部位的顯微照片之代碼，在葉片圖 1 所表示的構造之空格中。(5.6 分)

**問題 7：**

當填完圖 1 後，根據此解剖的特徵，推斷這片葉符合屬於哪一科？(2.4 分)

- a) 百合科
- b) 殼斗科
- c) 十字花科
- d) 禾本科
- e) 天南星科

**問題 8：**

葉解剖構造與植物生長的环境有關，且它表明其光合作用的路徑。據此，再次觀察圖 1 所示的構造，並且選擇符合此構造的代碼。

- 01 它進行卡爾文循環光合作用或 C3 路徑。
- 02 它可固定額外的碳(不是其它的)，並與卡爾文循環分開進行。

- 03 它顯示出分層的葉肉組織。
  - 04 它顯示出放射狀的葉肉組織(又稱 Kranz 型)。
  - 05 它顯示葉綠體雙型現象(即形態大小差異)
  - 06 光合作用的最適溫度在 15~25°之間
  - 07 光合作用的最適溫度在 30~25°之間
  - 08 它顯示出兩個發育完全之維管束鞘位於維管束周圍。
  - 09 它顯示出在維管束周圍的鞘狀構造。
  - 10 它並沒有顯示出在維管束周圍的鞘狀構造。
  - 11 去梭基的過程在葉之不同的部分進行。
- 答案：\_\_\_\_\_

**問題 9：**

完成以下關於碳同化之 3 個光合作用的主要路徑之比較表，應用各種特徵的號碼。(4 分)

**起始的梭化作用所對應之酵素**

- 01 二磷酸核酮梭化酶
- 02 磷酸烯醇丙酮酸梭化酶
- 03 蔗糖磷酸合酶
- 04 RuBP and PEPase
- 05 SPase and PEPase

**葉片解剖**

- 01 分層的
- 02 放射狀的
- 03 多肉的

**碳的固定時間**

- 01 白天
- 02 夜晚

03 晝夜皆有

碳固定後的第一個穩定產物

01 由六碳組成

02 由四碳組成

03 由三碳組成

水的運用效率

01 中等

02 高

03 低

光合作用速率

01 中等

02 高

03 低

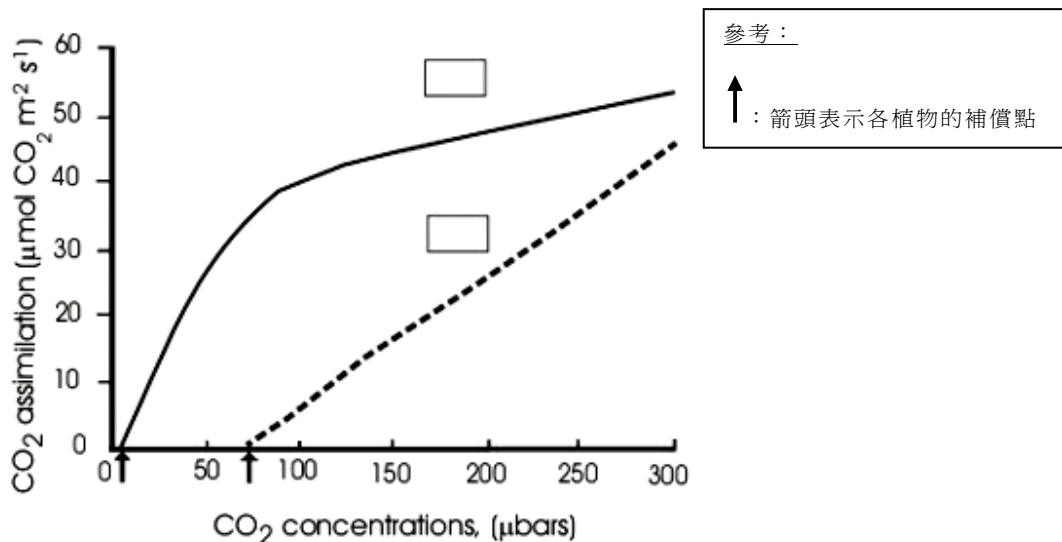
特性	C3	C4	CAM
起始的梭化作用所對應之酵素			
葉片解剖			
碳的固定時間			
碳固定後的第一個穩定產物			
水的運用效率			
光合作用速率			

**問題 10：**

如果將一棵植物置於一個密閉空間，並且給予照光，觀察空氣中 CO<sub>2</sub> 濃度由於光合作用而下降一會兒。此降低是逐漸的，但是它從未達到零值。被光合作用捕獲以及因為呼吸和光呼吸所釋放的 CO<sub>2</sub> 之間達到平衡。這平衡被稱為 CO<sub>2</sub> 補償點。

在下圖裡，觀察 C3 和 C4 植物之大氣中的 CO<sub>2</sub> 濃度對光合作用速率的影響。箭頭表示每棵植物的補償點。

透過在曲線上方的空格中適當填寫 C3 或 C4，來表示符合每棵植物的曲線。



圖二

## 實驗二：動物解剖、分類及生態

### 【引言】

- 雙殼貝綱 (Bivalve) 是軟體動物門 (molluscs) 中非常重要的一群，它的數量僅次為腹足綱 (gastropoda)，此綱也可稱為斧足綱 (pelecypoda) 或瓣鰓綱 (lamellibranchia)。
- 雙殼貝包含所有背腹扁平的軟體動物，其特徵包括：具有雙殼，在背部有強韌的肌肉和韌帶連接雙殼。
- 雙殼貝的外殼是由外套膜分泌而來，套膜包覆著內臟，在多數雙殼貝中，外套腔多位於兩側，鰓具有呼吸和消化的功能。
- 與其他軟體動物不同的是，雙殼貝缺乏齒舌，具有唇瓣，可將食物由鰓送到口部。
- 雙殼貝的頭很小，沒有特化的感覺器官。

### 問題 1：

包括 A、B 兩部分 (A 佔 10 分、B 佔 3 分)  
這個解剖題的主要目標，是比較三種海棲

### 雙殼貝的構造

#### 【材料】

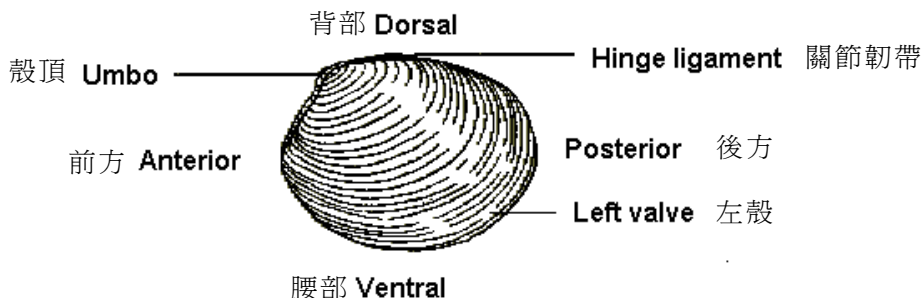
- 標本盤：內含編號 1~3 的三個海洋雙殼貝標本 (保存在 70% 酒精中)
- 一個解剖台
- 一支解剖刀
- 一支鑷子
- 十支大頭針 (三綠，三紅，三藍，一黃)
- 一雙拋棄式手套
- 一個口罩
- 一支放大鏡

實驗開始前，檢查所有的材料，如有不足，請舉手要求工作人員的協助。

### 問題 1-A：

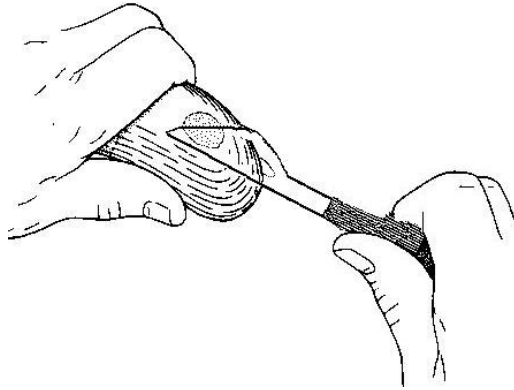
#### 【作法】

1. 戴上手套和口罩
2. 在開始解剖前，先辨識雙殼貝的外形 (圖三)



圖三

3. 兩外殼以韌帶連接，爲了辨識內部構造必須解剖標本，解剖時要非常小心，以免傷到手。插入解剖刀✂(圖四)，沿著外殼切斷閉殼肌。



圖四

4. 爲了完全分離雙殼，請在切斷肌肉後，請小心地切開殼頂的韌帶。
5. 當三個樣本都解剖完後，以不同顏色的大頭針標示以下構造：
- 每種雙殼貝樣本用三支相同顏色的大頭針標示(分別爲綠、紅、藍)，黃色的大頭針僅用於標示樣本 2，方式如下：
- 以綠色大頭針標示足部
  - 以紅色大頭針標示唇鬚
  - 以藍色大頭針標示鰓
  - 以黃色大頭針標示入水管 (僅需標示於樣本 2 上)
6. 完成操作後請舉手，由監試人員檢查，試卷紙需要有你本人及監試人員的簽名。

**問題 1-B：**

在解剖過程中可以觀察到，這三種雙殼貝的閉殼肌存在著差異。

根據閉殼肌的數量和大小，可將閉殼肌分類如下：

- 等閉殼肌：兩個閉殼肌的大小相同
- 不等閉殼肌：兩個閉殼肌的大小不同
- 單一閉殼肌：只具有一個大型閉殼肌，用以關閉雙殼

利用代號完成以下表格：

	雙殼貝 1	雙殼貝 2	雙殼貝 3
狀態			

代碼：

- 01 等閉殼肌
- 02 不等閉殼肌
- 03 單一閉殼肌

Signatures:

Student \_\_\_\_\_ Assistant: \_\_\_\_\_

**問題 2：**

包括 A、B 和 C 兩部分（共 27 分）

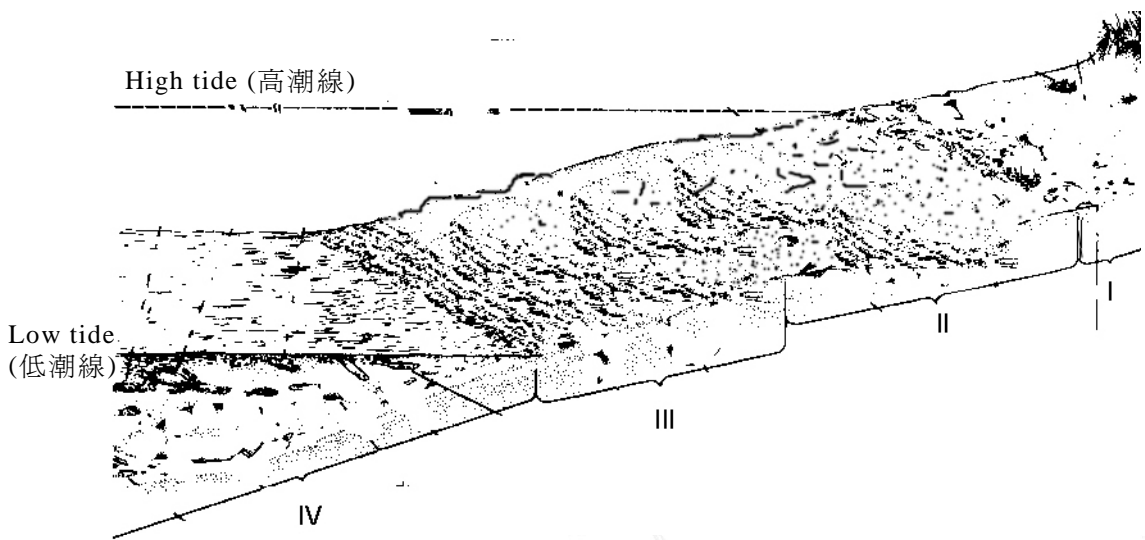
所有雙殼貝皆為濾食性的軟體動物，即經由過濾海水來獲得食物，其食物主要包括浮游生物及懸浮的有機物質。演化出此種濾食方式，使它們得以在不同的環境中生存，因而產生輻射適應。

**【目的】**

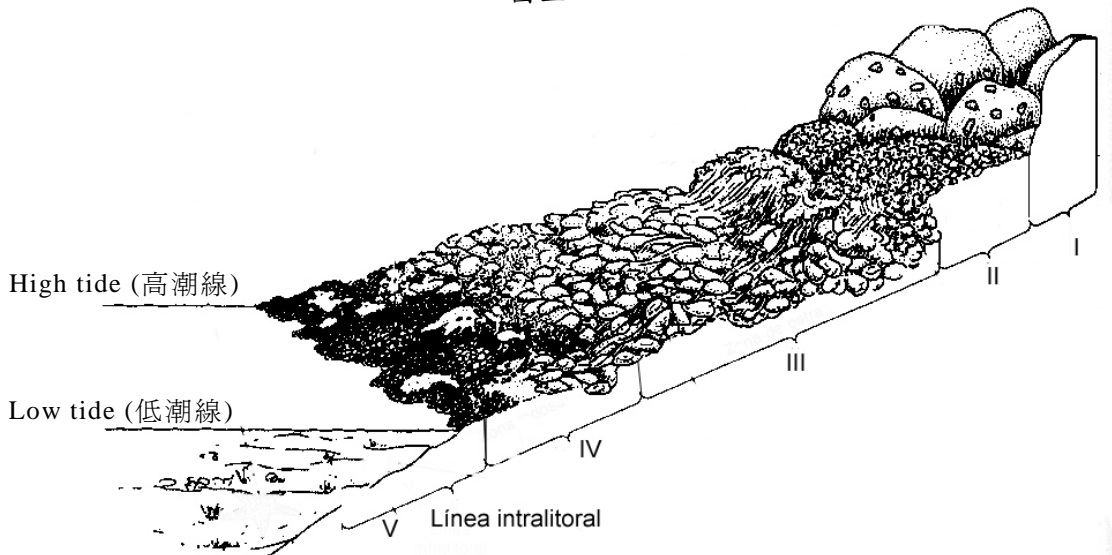
是要判斷不同樣本在海中生存的環境為何？並指出外部形態及生理解剖特徵，與它們棲息環境的關係。

**問題 2-A：**

以下二圖表示兩種海洋環境(每種環境又有不同的分區)，圖五表示沙岸，圖六表示岩岸。(9 分)



圖五



圖六

請將代碼 1~3 填入下表中，指出不同樣本應出現在何種海洋環境中。

代碼：

01 雙貝殼 1

02 雙貝殼 2

03 雙貝殼 3

沙岸	區域 I	區域 II	區域 III	區域 IV

岩岸	區域 I	區域 II	區域 III	區域 IV	區域 V

**問題 2-B：**

根據這些雙殼貝在沙岸及岩岸各區的分布情形，請以 "X" 表示這些雙殼貝樣本應生存於下列何種環境中(6 分)：

	雙貝殼 1	雙貝殼 2	雙貝殼 3
穴居於軟的介質中			
附著於介質表面			
自由游泳			

**問題 2-C：**

以下為與三種樣本的特徵及其棲息環境相關的敘述，檢查所解剖的樣本，總結所有特徵，將適當的代碼填入下表：(12 分)

答案代碼：

01 具有大型、穴居的足

02 具有退化、指狀的足

03 具有高度退化、極不明顯的足

04 缺乏前閉殼肌

05 缺乏水管

06 具有兩套水管(出水管和入水管)

07 入水管位於殼的邊緣

08 外套膜上有高度發達的感覺葉，其上有觸鬚及眼點

09 具有扁平的下殼(右側)

10 外套膜的邊緣融合

11 具有分泌黏液附著於環境的足絲線

雙殼貝 1	雙殼貝 2	雙殼貝 3

**實驗三：生物化學--利用酵素反應測定葡萄糖濃度**

**實驗 1：**

利用已知濃度的葡萄糖溶液，繪製濃度曲線圖。並將測量結果按吸光值對應葡萄糖濃度的方式標示在圖中。(15 分)

**【重要事項】**

準備使用光電比色計時，請舉起紅色卡片通知實驗室助理人員。

**【內容介紹】**

葡萄糖氧化酶 (GOD)可催化β-D-葡萄糖，轉

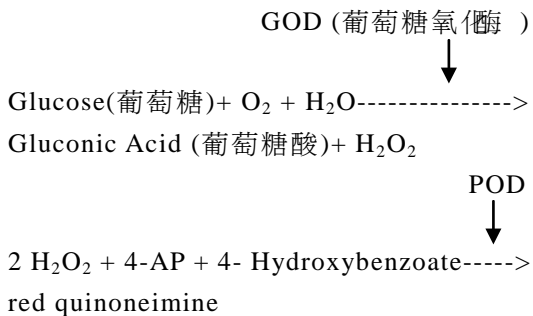


換成 D 型葡萄糖酸及過氧化氫的氧化作用，GOD 對 $\beta$ -D-葡萄糖具有高度的專一性，而 horseradish 過氧化酶 (POD) 可利用染色劑所提供的電子，將過氧化氫分解成水及氧，此時染色劑會因氧化而呈現紅色。由於過氧化氫的生成量與反應強度呈正比，故可藉由紅色的深淺估算反應的大小。

此方法可用以計算體液中葡萄糖的濃度，儘管 GOD 對 $\beta$ -D-葡萄糖具備高度的專一性，GOD 仍可用於估算體液中全部葡萄糖的濃度，因為當身體使用 $\beta$ -D-葡萄糖後， $\alpha$ -D-葡萄糖會藉由變旋作用轉換成 $\beta$ -D-葡萄糖，以維持 $\beta$ -型及 $\alpha$ -型葡萄糖間的濃度平衡。

### 【實驗原理】

其反應式如下圖：



葡萄糖氧化酶反應試劑成份：包括 GOD、過氧化氫酶、4-AP (染料) 等。

### 【本實驗中的反應試劑】

1. 葡萄糖氧化酶反應試劑 (已配妥可馬上使用)
2. 葡萄糖溶液 (其濃度未知)
3. 葡萄糖溶液 (濃度為 5 mg/mL)
4. 蒸餾水

### 【本實驗中各項設備】

1. 實驗手套 (一對)
2. 油性筆 (一支)
3. 1.5 ml 離心管 (18 個)
4. 微量滴管 (兩支)
5. 已設定於 37°C 的水浴器
6. 光電比色計 (需在助理協助下使用)
7. 比色管 (8 個)
8. 紙巾 (3 包)
9. 1000  $\mu$ l 滴管尖 (30 個)
10. 200  $\mu$ l 滴管尖 (30 個)

### 【實驗儀器】



**【調整方法】**

先拉起調整輪，再轉動調整輪，調整至所需容量後，再壓下調整輪。

注意：P100 微量滴管的最小及最大容量分別為 10 $\mu$ l 及 100 $\mu$ l。而 P1000 微量滴管的最小及最大容量分別為 100 $\mu$ l 及 1000  $\mu$ l。

**【使用方法】**

裝上滴管尖，輕輕壓下按鈕直到首個停止位，將滴管尖以垂直方式置入溶液中，約在液面下 2-3mm 處，放開按鈕使其慢慢回復原位並抽起的液體，再將管尖置入容器的內壁，重新壓下按鈕排放液體，要壓至首個停止位更下方的位置，確保所有液體均被排出，壓下排放滴管尖按鈕，可將使用過的管尖移除。

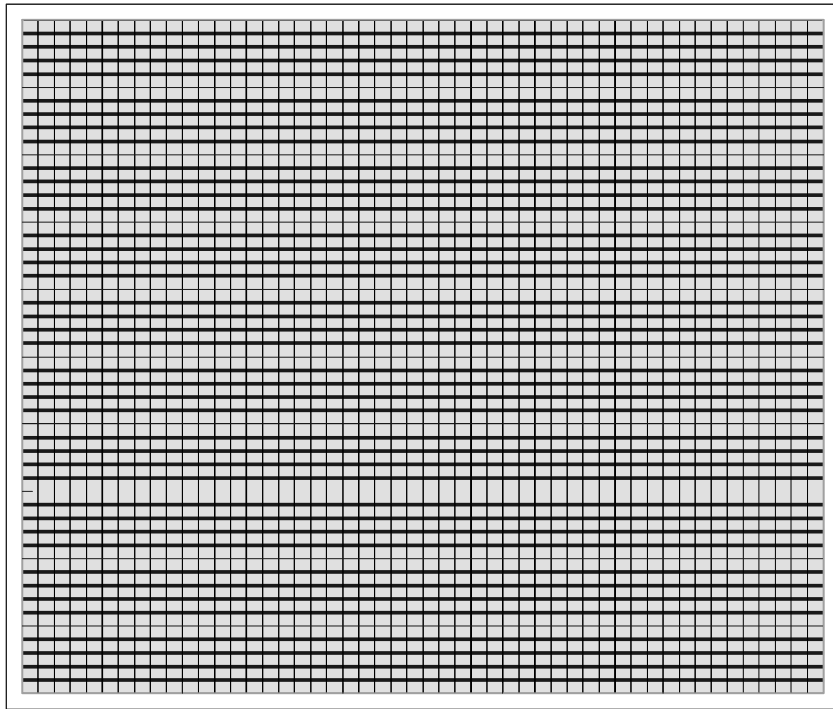
**【實驗流程】**

1. 利用油性筆於五個 1.5 ml 微量離心管上，標示 1/2、1/4、1/8、1/16 及 1/32 等五個稀釋比例數值，將濃度為 (5 mg/ml) 的葡萄糖溶液，按照各離心管上所標示的稀釋比例，利用蒸餾水進行序列稀釋，各試管內稀釋後的葡萄糖溶液，其最終體積設定為 100  $\mu$ l。
2. 混合均勻後，將稀釋的葡萄糖溶液，依下表所示體積，分別加到新的 1.5 ml 離心管中。

	樣本的體積	蒸餾水的體積	葡萄糖氧化酶反應試劑的體積
1/2	10 $\mu$ l	0	1 ml
1/4	10 $\mu$ l	0	1 ml
1/8	10 $\mu$ l	0	1 ml
1/16	10 $\mu$ l	0	1 ml
1/32	10 $\mu$ l	0	1 ml
Blank	0	10 $\mu$ l	1 ml

3. 混合均勻後將各離心管放入 37°C 水浴器中反應五分鐘。
4. 將各離心管的內容物，分別移入比色管中。
5. 必需使用一個空白的樣本進行較正，讀取各比色管於 505nm 下的吸光值。(當你/妳準備要使用光電比色計時，請舉起紅色卡通知實驗室助理人員)
6. 將吸光值與對應的葡萄糖水濃度(請換算為 $\mu$ g)畫在下方的記錄紙中。

	稀釋比例				
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
反應物中葡萄糖濃度( $\mu$ g)					
於波長 505nm 時的吸光值					

**實驗 2：**

利用先前畫出的標準曲線，求出樣本中葡萄糖的濃度。(10 分)

1. 按照下表所示，加入未知濃度的葡萄糖樣本，針對新的樣本，使用相同的葡萄糖氧化酶反應。

	Sample	Blank
樣本的體積	10 $\mu$ l	0
蒸餾水的體積	0	10 $\mu$ l
葡萄糖氧化酶 反應試劑的體積	1 ml	1 ml

2. 混合均勻後將各離心管放入 37°C 水浴器中反應五分鐘。

3. 將各離心管的內容物，分別移入比色管中
4. 必需使用一個空白的樣本進行校正，讀取各比色管於 505 nm 下的吸光值。(當你/妳準備要使用光電比色計時，請舉起紅色卡通知實驗室助理人員)
5. 利用先前劃出的標準曲線，計算出樣本中葡萄糖的濃度 (必需以  $\mu$ g/ml 表示求得之葡萄糖濃度及吸光值的關係)。

樣本的吸光值	
樣本中的葡萄糖濃度 ( $\mu$ g/ml)	

**問題(1)：**

葡萄糖氧化酶反應溶液中，可能含有觸酶(氧化去氫酶)，如不考慮此項條件，則對

實驗結果的判讀，可能造成下列何種影響 (1.5 分)

- A) 低估葡萄糖的濃度
- B) 高估葡萄糖的濃度
- C) 無任何影響

將代表正確答案的英文字母填入答案卷的欄位中。

**問題(2)：**

最佳反應酸鹼值，其定義為可使酵素反應活性最大的 pH 值。極高或極低的 pH 值常使酵素完全失去活性，其原因為何？(1 分)

- A) 破壞了蛋白質的二級構造。
- B) 破壞了蛋白質的三級構造。
- C) 破壞了蛋白質的一級構造。

請在代表正確答案的空格內打“X”。

- A     B     C     A, B  
 A, C    B, C    A, B, C

**問題(3)：**

利用酵母菌大量表現黑麴菌的葡萄糖氧化酶，將其葡萄糖氧化酶純化後，利用內糖苷酶及 $\alpha$ -甘露糖酶處理後，分析其糖基型式的改變對其酵素活性的影響。經酵素處理後的葡萄糖氧化酶，先用 SDS-PAGE 進行分離，再利用葡萄糖當作反應受質，分析其酵素活性，並計算其  $K_M$  值。 $K_M$  值代表某酵素達到其最大反應率一半時所需的受質濃度(單位為 moles/litre)(7 分)

具有不同型式糖基的葡萄糖氧化酶的  $K_M$  值列於下圖。

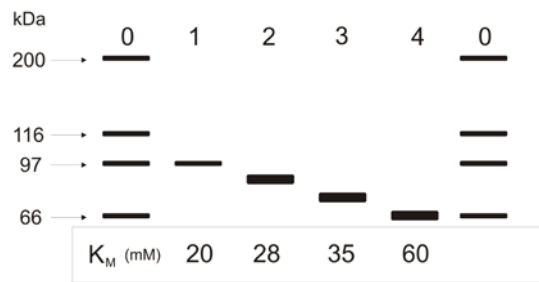


圖 1：利用 7.5% 的 SDS-PAGE 分析糖基型式改變的葡萄糖氧化酶，第一行為分子量標準液，第二行為未經酵素處理的葡萄糖氧化酶，第三行為經  $\alpha$ -甘露糖酶處理後的葡萄糖氧化酶，第三行為經內糖苷酶及  $\alpha$ -甘露糖酶處理後(完全去除糖基)的葡萄糖氧化酶。

根據圖 1 的結果，下列何者(或哪些)為正確的結論？

- A) 葡萄糖氧化酶為一同型二聚體，其分子量為 96 kDa。
- B) 去除糖基的葡萄糖氧化酶，其分子量約為 68 kDa。
- C) 經內糖苷酶及  $\alpha$ -甘露糖酶處理後的葡萄糖氧化酶，其分子量會減少，故可推論葡萄糖氧化酶是一個具有糖基的蛋白質。
- D) 葡萄糖氧化酶的多醣構造中，含有 N-乙醯胺基葡萄糖及甘露糖

請在正確答案的空格內打。

- A     B     C     D

**問題(4)：**

根據測定改變糖基型式的葡萄糖氧化酶的  $K_M$  值的結果，下列何者(哪些)是正確的敘述？

- A) 糖基化葡萄糖氧化酵素，對葡萄糖的親和力較高。
- B) 去糖基化後的葡萄糖氧化酵素，完全失去其活性。
- C) 去除糖基會使葡萄糖氧化酵素的活化位構造改變，因而產生所觀察到的  $K_M$  值變化。

請在正確答案的空格內打。

- A     B     C

**問題(5)：**

純化後的葡萄糖氧化酵素，分別在還原劑存在(DTT+)及不存在(DTT-)的條件下，利用 SDS-PAGE 電泳法進行分離，圖 2 為實驗所得的結果。(4 分)

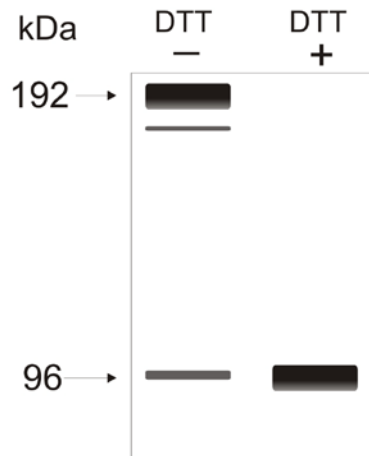


圖 2：利用 SDS-PAGE 分析純化後的葡萄糖氧化酵素。

根據圖 1 及圖 2 的實驗結果，下列何者最有可能為葡萄糖氧化酵素的構形？

- A) 單體，沒有糖基化的酵素。
- B) 單體，有糖基化的酵素。
- C) 為同質二元體，兩個單體均有糖基化。
- D) 為異質二元體，其中一個單體有糖基化。

請在代表正確答案的空格內打” X”。

- A     B     C     D

(待續)