

考生編號_____ 分數_____

二〇〇八年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

第 A 試場

植物學的實作題分為兩部份，分別為葉綠體的萃取與光合作用，以及葉綠體的觀察。

一、 實驗材料與藥品

材料與藥品	數量	材料與藥品	數量
新鮮菠菜	1 株/組	方格紙	1 張/組
比色試管	4 支/組	直尺 (15 cm)	1 支/組
鋁箔紙	1 張/組	鑷子	1 支/組
研鉢與研鉢棒	各 1 個/組	標籤紙	半張/組
海砂 (置於 1.5 ml 小離心管中)	1 克/組	鉛筆	1 支/組
50 ml 離心管	1 支/組	蓋玻片	2 片/組
離心機	2 台 (共用)	載玻片	2 片/組
紗布(20 cm x 20 cm)	1 條/組	GM buffer: 0.3 M sucrose; 0.2 M Tris-HCl, pH7.5; 5 mM MgSO ₄	50 ml /組
單面刀片	1 片/組	2,6-Dichlorophenolindophenol (DCIP) 0.4 mM	2 ml /組
光電比色計 (Spectrophotometer)	5 台	NH ₄ OH 0.01N	2 ml /組
顯微鏡	10 台	蒸餾水 (置於 25 ml 燒杯中)	10 ml/組
1 ml 滴管 (具有刻度)	1 支/組	碎冰 (置於 500 ml 燒杯中)	一些/組
天平	5 台 (共用)		

*請注意：

- 1.桌上的材料及器材用完後，將不再補充。
- 2.本試卷(含封面、試題卷、方格紙)共 6 頁，於交卷時全部繳回。
- 3.作答時間共 60 分鐘，請於本卷上作答。試題答案可寫至題目背面，但請註明並標上題號。
- 4.請於本頁左上角「考生編號」處，填入個人編號。

壹、葉綠體的萃取與光合作用的測定（70分）

一、實驗步驟與結果

1. 稱取新鮮的菠菜葉片 5 克，去除葉脈及葉柄，加入冰冷的 40 ml GM buffer，置於研鉢內，外加海砂 1 克，適度研磨。
2. 以八層紗布過濾，並裝入 50 ml 的離心管中。
3. 交由助教稱重平衡後，置於離心機，以轉速 3000rpm 離心 5 分鐘。
4. 拋棄上層懸浮液，收取葉綠體沉澱物。
5. 以 6 ml 冰冷 GM buffer 將離心管內的沉澱物懸浮起來，置於碎冰中待用。
6. 依下表配置各種反應溶液，並且加等量的葉綠體懸浮液至標示 Blank 試管中；但是其它試管(#1~#3)則最後才加入葉綠體懸浮液。
7. 由助教將光電比色計(spectrophotometer)的波長設定在 600 nm，並且利用”Blank”來歸零。
8. 欲取用葉綠體懸浮液前，要徹底的混合；加葉綠體懸浮液至任何試管中，必須要快速的混合，交由助教以進行 OD₆₀₀的測定。
9. 試管#2 ~#3，放在台燈前 15 公分處，每隔二分鐘測定吸光度，共測定 8 分鐘。
10. 黑暗組以鋁箔紙包住以隔光，並於 0 分鐘及 8 分鐘時，取出試管測定吸光度。

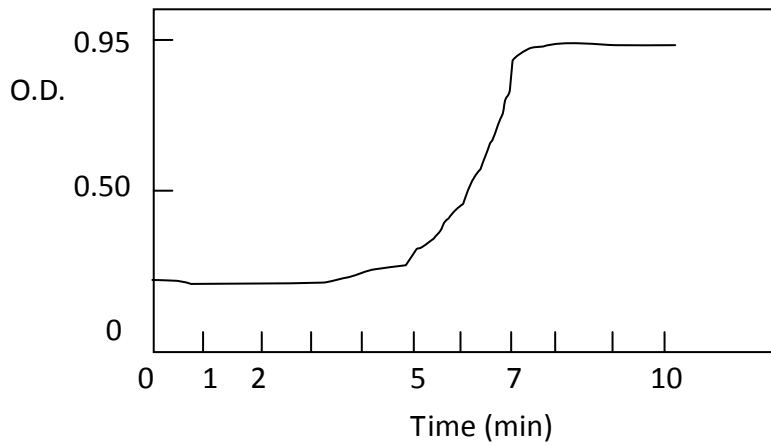
試管號碼	GM buffer	DCIP (0.4 mM)	NH ₄ OH (0.01 N)	蒸餾水	葉綠體 懸浮液
Blank	3.5 ml	--	--	1.0 ml	0.25 ml
1 (黑暗組)	3.5 ml	0.5 ml	--	0.5 ml	0.25 ml
2	3.5 ml	0.5 ml	--	0.5 ml	0.25 ml
3	3.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	--	0.25 ml

實驗結果：請依照試管#2 測定的結果，將 O.D.值(Y 軸)及時間(X 軸)的關係繪成曲線圖。(30分) 請畫於方格紙上

二、 問題

1. 比較試管#1 與試管#2 測定的結果，請推論此試驗中所作用的原理為何？
(10 分)
2. 比較試管#2 與試管#3 所測定的結果，請解釋 NH_4OH 對此實驗的影響。(10 分)
3. 如果試管#3 中以 DCMU(一種殺草劑)取代 NH_4OH 進行試驗，試推論在此實驗中最可能的作用為何？(10 分)
4. 某生做了#2 的實驗，他將 DCIP 顏色變化的結果依 O.D.值與時間的關係繪成

圖表，如下圖：



依照結果，該生推斷在第 7 min 因葉綠體突然失去活性，所以反應將不再進行，故 0-7 min 階段為上升曲線；7-10 min 階段為直線。

你認為他畫的圖表正確嗎？試解釋之；若為錯誤，請畫出正確圖形並解釋之。
(10 分)

貳、葉綠體的觀察 (30 分)

請將試管內的葉綠體懸浮液混合均勻，以塑膠滴管取出一滴混合液，滴在載玻片上於顯微鏡下觀察。

1. 試估計試管中葉綠體的密度 (請簡述測量的方法並列出計算式)。(10 分)

2. 請以 40 倍接物鏡仔細觀察葉綠體，並指出其內呈現較深色的構造為何？利用接目鏡內的刻度 (一個小刻度約為 $12 \mu\text{m}$)，估計葉綠體的平均大小 (請列出計算的式子)，另再簡繪一個葉綠體，於圖中以標尺表示其相對 $5 \mu\text{m}$ 單位長度。(20 分)