

考生編號：\_\_\_\_\_ 分數：\_\_\_\_\_

## 2015 年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

### 第 4 試場 TASK2、TASK3

※ 實驗所需之器材及藥品，都已放在桌上，請按照下面的清單清點。若有缺少請舉手告訴評審老師。實驗完畢後，請將用過的器材清洗乾淨並放置整齊。

實驗器材與試劑：

試劑與實驗材料	數量
抗酸性細菌一株 (A)	1 瓶
非抗酸性細菌一株 (B)	1 瓶
固定有寄生性原蟲玻片	2 片
石炭酸品紅 (carbol fuchsin, 也稱酚品紅)	1 瓶
亞甲藍染劑 (methylene blue)	1 瓶
酸性酒精	1 瓶
油鏡專用油 (Immersion oil)	1 瓶
器材	數量
計時器	1 個
載玻片	2 片
接種環	1 支
酒精燈	1 台
塑膠手套	1 盒
夾子	1 支
吸水紙	1 包
拭鏡紙	1 盒
活性碳口罩	1 個
顯微鏡	1 台
剪刀	1 把

※ 請注意：

1. 請確認考生編號是否與您的考號相同。
2. 請確認桌上的材料及器材，材料用完後，將不再補充。
3. 本試卷(含封面、試題卷)共 3 頁，於交卷時全部繳回。
4. 本試場含 TASK1、TASK2 及 TASK3，作答時間共為 80 分鐘
5. 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。

## TASK2

### 一、實驗背景

癩瘋病與結核病是人類歷史上重要的傳染病，此二種疾病的病原體都是 *Mycobacterium* 屬的細菌，此屬細菌由於細胞壁上具有蠟質 mycolic acid 的成分，會阻擋一般染劑進入細胞內，因此無法用一般的染色方法加以染色。微生物學家於是發展出抗酸性染色法，藉由使用穿透力強的染劑與溫和加熱軟化 mycolic acid 的方式，成功將此屬細菌染上顏色，而一旦染劑穿透進去之後也很難被移除，即使是使用酸性酒精（一種很強的脫色劑），仍舊無法使其脫色，因此稱作抗酸性細菌。*Mycobacterium* 屬細菌經由抗酸性染色後，便可使用顯微鏡觀察其細胞形態，同時也可用此染色法鑑別出其與非抗酸性細菌的差別。

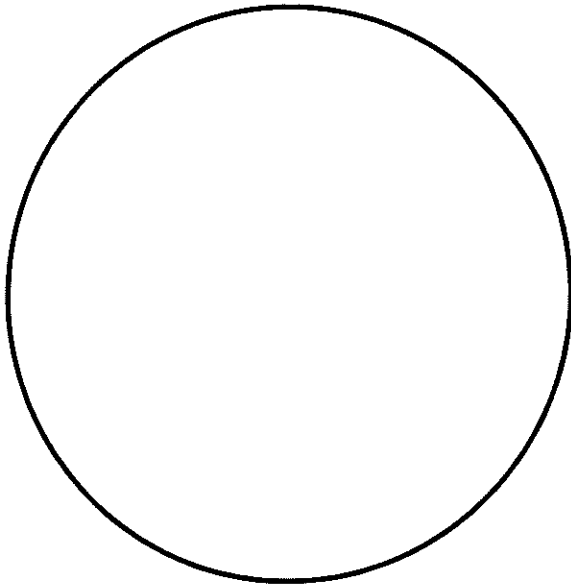
### 二、實驗步驟

1. 戴上活性碳口罩及手套。
2. 準備一個乾淨載玻片，利用無菌操作技術在同一個玻片上併排製作細菌 A 及細菌 B 之抹片，自然風乾後過火 4 次加熱固定；
3. 將吸水紙剪成與玻片一樣寬度，放在抹片上；
4. 滴上石炭酸品紅染劑，使吸水紙保持濕潤；
5. 用夾子夾住將含有染劑之抹片放在酒精燈上加熱；
6. 待有蒸氣冒出時，離開酒精燈（不要持續加熱，避免染劑快速揮發而乾燥）；
7. 若已無蒸氣冒出，再度放上酒精燈加熱；
8. 接下來反覆重複步驟 6 和 7，持續加熱 5 分鐘（請注意：請保持抹片濕潤狀態，若染劑不足可滴加染劑）
9. 5 分鐘之後，移開火源，待玻片冷卻後，將吸水紙片取下丟棄到垃圾桶中；
10. 將玻片傾斜，滴加酸性酒精脫色，直至流下的酸性酒精呈現無色為止；
11. 用水沖洗抹片；
12. 加入亞甲藍染劑染色 2 分鐘做對比染色
13. 用水將多餘染劑沖掉，以吸水紙吸乾水分；

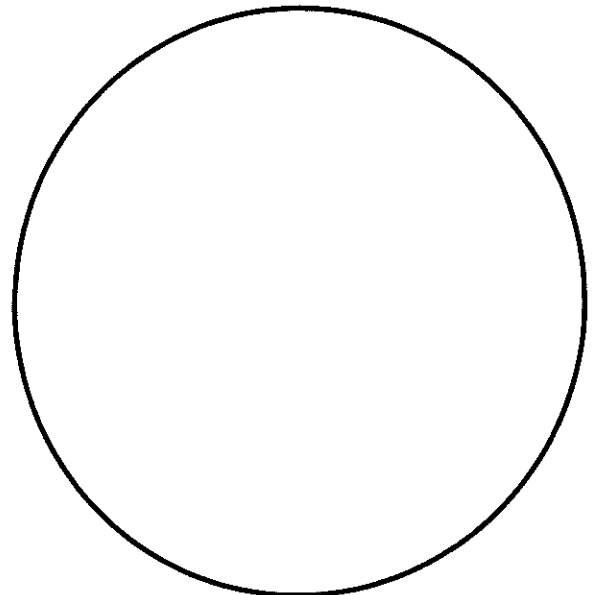
14. 用放大倍率 1000 倍顯微鏡以油鏡觀察細胞形態及顏色。

三、問題

1. 分別繪出細菌 A 與細菌 B 之細胞形狀 (10 分)



**A**



**B**

2. 細菌 A 呈何種顏色? (10 分) 細菌 B 呈何種顏色? (10 分)

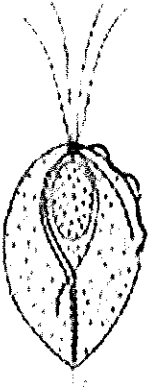
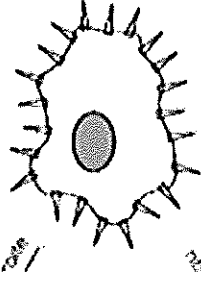
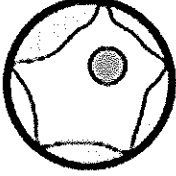
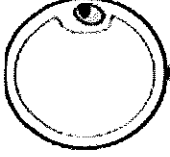
### TASK 3

承上題，以同樣染色步驟處理寄生性原蟲玻片，TASK 2 未得分者，本題不予計分。

分枝桿菌的細胞壁內含有大量的脂質，包圍在肽聚糖的外面，染料不易滲透。所以分枝桿菌一般不易著色，要經過加熱和延長染色時間來促使其著色。但分枝桿菌中的分枝菌酸與染料結合後，就很難被酸性脫色劑脫色，故名抗酸染色。寄生性原蟲為了抵抗惡劣環境，有些種類也會發展出具有囊壁的囊體 (cyst) 時期，因此對於能產生囊體的原蟲，有時也會以抗酸染色來進行形態學上的鑒別。

問題：

請找出下列表中所列舉的原蟲外型卡通圖進行觀察並辨認，找到後請舉手。此時，監考老師會進行確認。(每題 5 分，共計 20 分)

樣本卡通圖 評分*				
第一次				
第二次				
第三次				
得分				

\*注意：第一次便答對滿分 (100%)，第二次答對減半 (50%)，第三次答對為四分之一 (25%)。