

考生編號\_\_\_\_\_ 分數\_\_\_\_\_

## 2018年第29屆國際生物奧林匹亞國手選拔營

### 植物實作題

注意：操作時間有限，請善用等待實驗作用的時間。

#### 一、材料及實驗設備：

A 實驗植物材料：(僅使用野生型 Col-0、突變體 b)		數量	
1. 阿拉伯芥 (野生型 Col-0、突變體 b)在白光生長 2 週後再移入(紅光+藍光)(光強度 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ )中生長一段時間。		一盤 (4 種幼苗) /人	
B 實驗器材：		數量	
1. 光學／解剖顯微鏡	各 1 臺	C 藥品溶液：	
2. 電子目鏡	1 臺	平衡溶液 (30 mM KCl, 10 mM MES-KOH, pH 6.15)	10 ml/人
3. 筆記型電腦	1 臺	平衡溶液 (含 10 $\mu\text{M}$ MeJA)	10 ml/人
4. 剪刀/尺/計算機	各 1 個	平衡溶液 (含 50 $\mu\text{M}$ ABA)	10 ml/人
5. 滴管 3cc	3 支	蒸餾水	10 ml/人
6. 鑷子(細尖頭)	2 支		
7. 載玻片	6 片		
8. 蓋玻片	12 片		
9. 吸水紙	1 盒		
10. 單面刀片	1 支		
11. 油性簽字筆 (細頭)	1 支		
12. 紙膠帶	1 捲		
13. 霧面膠帶	1 捲		
14. 分隔培養皿(已標考號)	4 盤		
15. 計時器	1 個		

#### 注意事項：

1. 請確認考生編號是否正確；若有誤，請舉手請助教處理。
2. 桌上的藥品及器材用完後，將不再補充。
3. 公用儀器運用請依照指示使用。
4. 本試卷 (含封面、試題卷) 共 5 頁，於交卷時全部繳回。
5. 作答時間共 90 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。

## 第一部分 調查光強度與激素對於阿拉伯芥氣孔的影響：

本次實作乃利用白光與紅光、藍光，以及不同激素處理阿拉伯芥(野生型 Col-0，以及突變體 b)一段時間後，利用顯微鏡觀察葉片下表皮氣孔打開的狀態，以瞭解光和激素對於阿拉伯芥氣孔的影響。

### 二、實驗方法、結果與討論：

實驗一：以直接撕葉片表皮方法，進行氣孔的觀察。

1. 取生長在(紅+藍光)(總光強度是  $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ )中的阿拉芥(野生型 Col-0，以及突變體 b)幼苗葉片各一片，進行氣孔大小的觀察。

#### 2. 樣本製作

請剪下約長 5.5 公分，寬 2.5 公分的紙膠帶黏性面朝上固定於桌面，取阿拉芥(野生型 Col-0 及突變體 b)之葉片，將葉面上表皮平貼至紙膠帶上，再以霧面膠帶服貼下表皮，形成三明治的狀態(輕壓)，再小心撕下霧面膠帶，植物的下表皮就會跟著霧面膠帶一起被撕下來。

依下面不同的實驗處理，將野生型以及突變株 b 可以標記在霧面膠帶的角落，以利區別。 **☞ 含野生型及突變株下表皮的霧面膠帶 (請製作三組)!!!**

#### 3. 激素(荷爾蒙)處理

- ①請於分隔培養皿中分別滴入平衡液(30 mM KCl, 10 mM MES-KOH, pH6.15) 將 3 組含野生型及突變株下表皮的霧面膠帶分別浸泡在分隔培養皿的平衡溶液中，維持在原先光強度的植物生長箱反應 **15 分鐘**。
  - ②請依以下 ABC 溶液滴入分隔培養皿中：
    - A. 對照組：平衡液(含 30 mM KCl, 10 mM MES-KOH, pH6.15)
    - B. MeJA 組：平衡溶液(含  $10 \mu\text{M}$  MeJA 含甲基化茉莉酸的平衡溶液)
    - C. ABA 組：平衡溶液(含  $50 \mu\text{M}$  ABA 含離層酸的平衡溶液)
  - ③將反應 15 分鐘後的野生型及突變株下表皮之膠帶，分別移入 ABC 分隔培養皿內：使下表皮的霧面膠帶浸泡在分隔培養皿的溶液中，**繼續於原來光照條件的生長箱反應 20 分鐘**
  - ④取出含有植物下表皮連同霧面膠帶置放玻片上，用微量吸管滴上原本所處理之 ABC 溶液，然後蓋上蓋玻片。
4. 利用光學顯微鏡觀察各樣品氣孔的大小，用電子目鏡照相紀錄並存檔。(6 分)  
圖檔及檔名皆註明：考號-圖片編號。(如: F1-1 表示考號 F1-野生型對照組)

樣品	野生型	突變體 b
對照組	1	2
$10 \mu\text{M}$ MeJA	3	4
$50 \mu\text{M}$ ABA	5	6

5.以光學顯微鏡測量各處理後的「野生型」樣品氣孔的大小，分別量長軸(L；與保衛細胞長軸平行者)及短軸(S；與保衛細胞長軸垂直者)的長度，重複量取三個不同的氣孔以得平均值。註：以40倍物鏡下，目鏡測微器的每個刻度為單位”U”；氣孔大小的表示方式為 L x S (U)，紀錄於表格二。

測量大小氣孔請評估至小數點後一位。

結果與討論：

1. 根據所觀察的各樣品的氣孔形狀大小，描繪(是指繪圖)於下列表格中。

(每格2分，共12分)

樣品	野生型	突變體 b
對照組		
10 $\mu$ M MeJA		
50 $\mu$ M ABA		

2. 在各處理之後，野生型樣品氣孔的大小 (U) (15分)

光強度 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ )	100		
對照組			
平均			
10 $\mu$ M MeJA			
平均			
50 $\mu$ M ABA			
平均			

3. 承接問題 1 所觀察氣孔的大小，試推論突變體 b 最有可能屬於何種突變體？

突變體 b：\_\_\_\_\_ (3 分)解釋：\_\_\_\_\_ (5 分)

突變體 b 對於 MeJA 與 ABA 的反應是否與野生型相同？(3 分)(勾選其一)

相同：\_\_\_\_\_，還是不同：\_\_\_\_\_；

請解釋原因？(5 分)

\_\_\_\_\_。

4. 承接問題 1，如果將對照組的樣品(野生型 Col-0，以及突變體 b)移入黑暗中 4 小時後，試比較其氣孔大小與問題 1 的氣孔的差異。(3 分)(勾選其一)

突變體 b：\_\_\_\_\_變大；\_\_\_\_\_變小；\_\_\_\_\_不變

請解釋原因？(5 分)

\_\_\_\_\_。

5. 本實驗中氣孔大小的觀察，請說明照射紅光處理的原因？(8 分)

原因：

\_\_\_\_\_

## 第二部分 阿拉伯芥子葉與真葉的形態解剖比較：

比較不同的阿拉伯芥品系(野生型 Col-0，以及突變體 b)上的子葉與真葉是否有差異，利用光學或解剖顯微鏡觀察其各項特徵，並列出比較表，如下。將子葉與真葉分別拍照記錄，然後將特徵一一列出，除文字描述特徵外，亦可加繪圖補充說明。(自行加入特徵列) (共 35 分)

### 1. 子葉與真葉分別拍照記錄。(10 分)

請利用電子目鏡照相紀錄之並存檔，圖片中另可加文字說明

請注意：照相圖片及存檔名皆需為：考號。否則不予計分。

**用光學顯微鏡(4 倍物鏡)拍照指出兩者的差異**

### 2.比較表 (25 分)

特徵	野生型	突變體 b