

競賽編號：

104 學年度高級中學 全國生物科學科能力競賽

植物動物生理組操作試題

得 分



本試卷滿分 100 分

競賽編號：

競賽說明：

請依所指定器材及藥品動手操作，並將答案填寫於答案卷的規定位置。**實驗時請自己根據實驗需要來安排時間及實驗順序。**本試卷配
分 100 分。

材料及實驗設備：

本試卷共分二個實驗題，所提供的材料及儀器設備列於各實驗題中，置於標示「植物動物生理組」之塑膠籃中，請檢查個人器材，如有不符，請舉手聲明，**各項器材必須節省使用，競賽開始後不再補發。**

實驗一

【植物開花調控分析實驗】（50 分）

一、實驗目的：

以植物形態發育學與生理方法，分析植物由營養生長期進入生殖生長期後之變化與調控。

二、實驗原理：

調控植物開花由營養生長期轉變為生殖生長期主要由光週期、低溫春化作用、吉貝素、自發性機制所控制，進而誘導開花素蛋白（Flowering Locus T, FT）的表現與移動。FT 蛋白於葉子韌皮部形成，經篩管運輸至莖頂，進而開始花組織器官的分化與發育，雄蕊花粉藉由雌蕊柱頭進行授粉後，花朵子房開始發育而成為果實，其中營養鹽例如：硝酸鹽的轉運也在開花結果時扮演重要角色，本實驗操作題以模式植物阿拉伯芥（*Arabidopsis thaliana*）為材料，試回答下列問題：

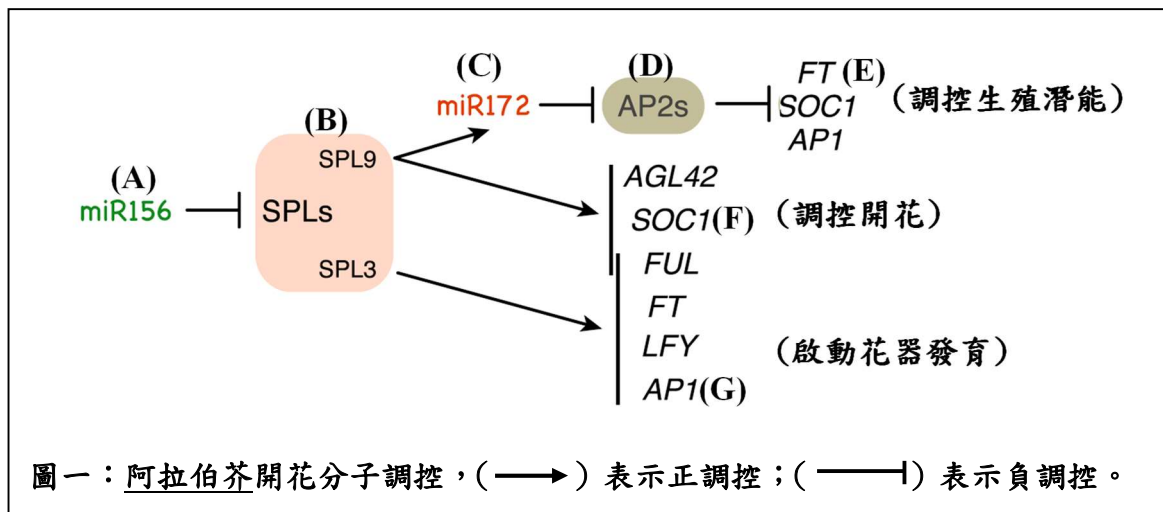
三、實驗器材：

實驗器材	數量	實驗器材	數量
解剖顯微鏡	1 台	硝酸鹽試紙 (憑卷領取)	4 份
9 cm 培養皿	1 個	Bradford 試劑	4 個
鑷子	1 個	牙簽	2 支
甲、乙、丙、丁四種果實樣本	各 1 份	滴管	1 支
阿拉伯芥植物 (戊、己、庚)	各 1 株		
1 mL 水之封口袋	2 份		

四、實驗問題：

- 請以解剖顯微鏡觀察分析阿拉伯芥花朵有幾片花瓣（1 分）？幾枚雄蕊（2 分）？幾個雌蕊（2 分）？
- 請以解剖顯微鏡觀察與比較阿拉伯芥花朵(請選擇適合花朵、花苞)受粉前、後柱頭之差異，請描繪出授粉前、後柱頭之形態（2 分）？並說明柱頭形態在授粉前後之變化與功能的關聯性為何（3 分）？
- 請解剖阿拉伯芥果實後，請畫出中段橫切面之構造？請問阿拉伯芥果實由幾個心皮發育而成？請以心皮數量為依據，比較阿拉伯芥果實解剖構造與甲、

- 乙、丙、丁四種果實樣本，請問阿拉伯芥果實與何者最為類似（請填代號甲、乙、丙、丁可複選 全對給分）（5分）？
4. 近年研究發現在阿拉伯芥開花分子調控中，微 RNA（micro RNA）也扮演重要角色可調控 mRNA 表現量，miRNA 可調控並降解 mRNA，以達到抑制 mRNA 表現量之效果，請問下圖一中何者分子大量表現後，與野生型相較，可助於提早開花（請填圖一中 A~G 的代號 可複選 全對給分）（5分）？



5. 承第 4 題，何者分子大量表現後，與野生型相較，將延遲開花（請填圖一中 A~G 的代號 可複選 全對給分）（5分）？
6. 實驗材料中三株阿拉伯芥植物分別編號為戊、己、庚，請分析比較開花先後順序，推論何者為野生型、miR172 大量表現株、miR156 大量表現株，請於答案卷上之表一填入代號戊、己、庚（5分）？

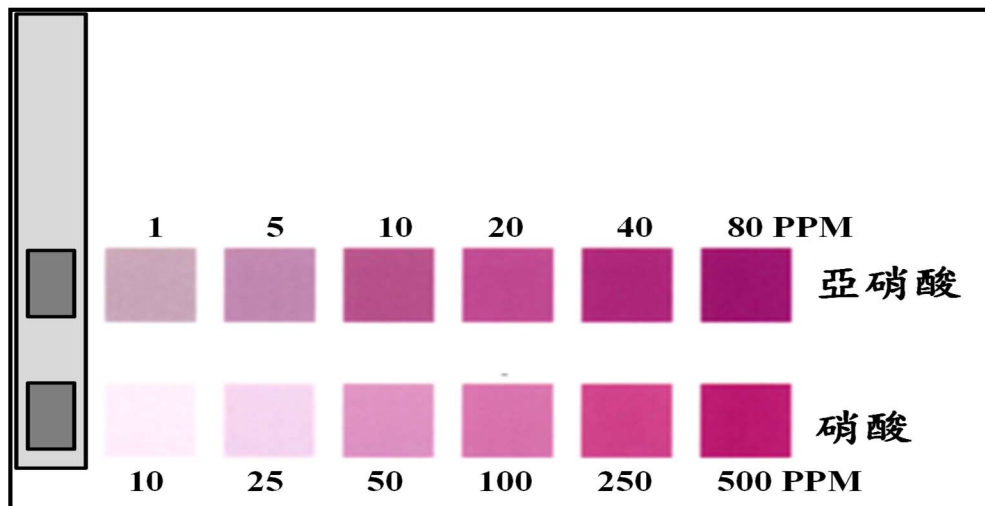
表一：阿拉伯芥基因轉殖株之開花調控性狀分析

野生型	miR172 大量表現株	miR156 大量表現株

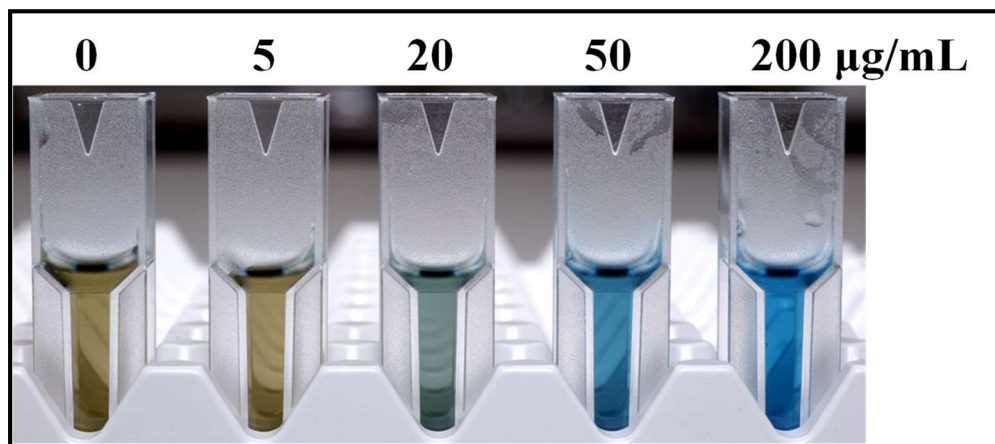
7. 請以植株營養葉之葉片數量，來定量 3 株植物開花先後順序，請在答案卷圖框處作圖並標註縱軸與橫軸之項目及單位（10分）？
8. 請取野生型阿拉伯芥植株並分別測量營養葉片與果實之硝酸鹽與蛋白質含量，並說明硝酸鹽在開花結果時如何轉運，請依下列方法進行實驗分析：
- (1) 請先取 3 片最年輕之營養葉片，並在裝有 1 mL 水之封口袋內進行搓揉以研磨組織；相同之研磨法搓揉以研磨等重果實（由下而上取約 10 個）。
 - (2) 硝酸鹽以硝酸鹽試紙測定並進行比色以定量濃度（請參照圖二）。
 - (3) 將適量約 2 滴萃取液滴在硝酸鹽試紙上，反應約 1 分鐘後進行比色定量。
 - (4) 蛋白質以 Bradford 試劑測定並進行比色以定量濃度（請參照圖三）。
 - (5) 將 0.2 mL 萃取液加入 0.5 mL Bradford 試劑，反應 1 分鐘後進行比色定量。
 - (6) 請完成下表二（5分），並依此結果推論硝酸鹽與蛋白質在植株開花結果時之轉運方向與硝酸鹽及蛋白質在營養葉與果實變化為何（5分）？

表二：硝酸鹽與蛋白質在植株開花結果時之轉運與變化

	營養葉	果實
硝酸鹽濃度 PPM		
蛋白質濃度 $\mu\text{g/mL}$		



圖二：硝酸鹽之測定與試紙比色濃度。



圖三：蛋白質之測定與試劑比色濃度。

實驗二

【蛋白酶酵素活性分析實驗】（共 50 分）

一、實驗目的：

以吉利丁為材料進行蛋白酶酵素活性分析

二、實驗原理：

膠原蛋白(collagen)是動物結締組織中最重要的細胞外蛋白質，它賦予皮膚、韌帶、肌腱強度與彈性。將膠原蛋白在水中煮沸會破壞它原有的規則纖維狀結構，使它水解成為易溶在水中的較不規則小片段，稱為明膠或吉利丁(gelatin)。吉利丁是做果凍和甜點常用的材料，通常取自動物的皮或骨，吉利丁溶液的濃度夠高（例如 3%）時，將溫度降低至 4°C 時其中的分子會以較不規則的方式互相交錯接合，形成網狀的構造，溶液因此凝固成為具有彈性的膠狀物，但是溫度若上升至室溫，吉利丁膠又會再融化成為液態，吉利丁膠遇水也很容易因稀釋而溶解。

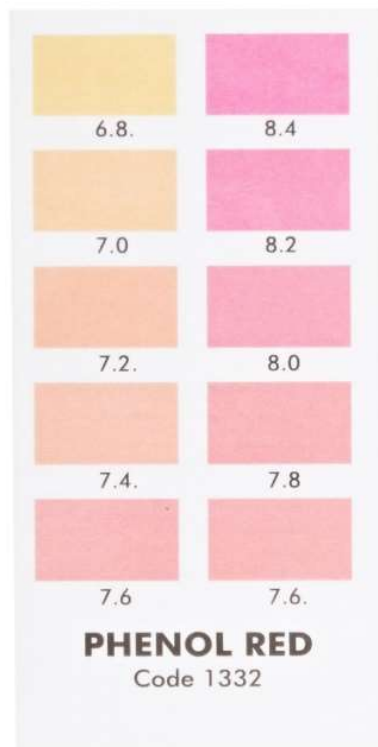
因為吉利丁是蛋白質，可以用來作為檢測蛋白酶的資料，我們將用它來檢測胰蛋白酶(trypsin)的活性。胰蛋白酶是胰臟產生的蛋白酶，動物用它來水解進入小腸中的食物蛋白質，因此它在 37°C、微鹼性(pH=7-9)的條件下具有最佳的活性，降溫至 4°C 或置於酸性(pH=3)環境則停止反應，因為在中性溶液中胰蛋白會發生自水解反應，因此製備胰蛋白酶溶液時通常將它溶在稀釋的醋酸或鹽酸溶液中，並儲放在低溫下備用。

三、實驗器材：

實驗器材	數量
桌上有 5 管待測的溶液 E1、E2、E3、E4 和 E5	各 1 ml
3%吉利丁溶液 20 ml （溶液 G）	1 份
50 mM 磷酸鈉緩衝液（pH=7.6）2 ml（溶液 B）	1 份
0.1%酚紅溶液 2 ml（溶液 P）	1 份
10 ml 移液管	1 支
移液管吸筒	1 支
玻璃試管	10 個
燒杯	2 個
碎冰	1 份

競賽編號：

酚紅酸鹼指示劑色圖



四、實驗問題：

1. 請用上述材料檢測溶液 E1、E2、E3、E4、E5，何者具有蛋白酶的活性？（20 分）
2. 請簡要說明你檢測的步驟與判定活性的方法。（30 分）