

九十九學年度高級中學全國生物科學科能力競賽

實驗操作試題注意事項(總則)

- 1.本競賽手冊共分為動物組、植物組及遺傳演化組等三份實驗操作題。**考試時間為 180 分鐘**，中途若需上盥洗室，可先舉手經試務人員同意，由專人陪同進出試場。
- 2.請先核對桌面上之藥品器材與試題所列之實驗器材(包括各組實驗小題所另列之器材)是否相符後，依指定器材及藥品動手操作。如有缺漏，請於規定時間內告知監試人員補足。**超過核對器材規定時間(10 分鐘)後，不再補發。**
- 3.答案請填寫於規定位置中，**並請自己根據實驗需要來安排時間及實驗順序。**
- 4.請先核對每份試卷上之競賽編號是否與所穿著之背心編號相符後再作答。
- 5.本測試之配分為動物組、植物組及遺傳演化組各 100 分，共 300 分。
- 6.各組實驗器材如下：

(1) 動物組：(分為 3 個實驗題)

實驗一

品名	數量	品名	數量
生理食鹽水	1 管(約 15 毫升)	紅血球稀釋液	1 管(約 6 毫升)
凝集素(Concanavalin A)	1 管(約 5 毫升)	微量離心管(含蓋子)	20 個
A 檢體	1 管(約 1 毫升)	試管架	1 個
B 檢體	1 管(約 1 毫升)	塑膠吸管(1 毫升，共有 4 個刻度，最小刻度為 0.25 毫升)	8 支
C 檢體	1 管(約 1 毫升)	標示筆	1 支
D 檢體	1 管(約 1 毫升)	手套	1 雙
E 檢體	1 管(約 1 毫升)		

附註：各實驗操作題另備有材料及藥品，請詳細比對。

實驗二

品名	數量	品名	數量
動物血液	0.5 毫升	面紙	1 包
玻片	5 片	玻璃毛細管	3 根
玻片保存盒 (5 片裝)	1 個	乳膠手套	1 雙
A, B, C 染液(2 毫升)	分裝於 3 瓶	簡易染色盒	1 個
蒸餾水清洗液(5 毫升)	1 瓶	夾鍊袋	1 個
2B 鉛筆及橡皮擦	各 1 個	一般光學顯微鏡	1 台

實驗三

品名	數量	品名	數量
未知溶液	6 種	塑膠吸管	15 支
反應試劑	8 種	1ml 定量吸管	2 支
已知溶液	2 種	吸球	1 個
24 孔盤	2 個	100ml 燒杯	1 個

(2) 植物組：(分為 2 個實驗題)

◎共用試藥器材：(置於講台上，如有需要請自行取用)

蒸餾水	衛生紙	擦手紙
拭鏡紙	乳膠手套	濾紙

◎各組實驗器材：

實驗器材	數量	實驗器材	數量
光學顯微鏡	1 台	載玻片	10 片
10 ml 量筒	1 個	蓋玻片	20 片
100 ml 燒杯	1 個	500 ml 燒杯	1 個
鑷子	1 支	單刀刀片	1 支
試管(10~25 ml)	5 支	自黏標籤	1 張
塑膠吸管(有刻度)	3 支	培養皿(5~9 cm)	4 個
油性筆	1 支	衛生紙隨身包	1 包
實驗一器材*	1 組	實驗二器材*	1 組

*：實驗一器材與實驗二器材進行檢視，請立即翻至實驗操作題部分察核

(3) 遺傳演化組(分為 1 個實驗題)

◎共用試藥器材：(置於講台上，如有需要請自行取用)

果蠅麻醉器材(共用，請至講台請試務人員協助操作)

◎實驗器材：

實驗器材	數量	實驗器材	數量
放大鏡	1 支	A 品系：突變性染色體($X^A X$ 與 $X^A Y$)果蠅	1 瓶
紙卡	1 張	B 品系：正常性染色體(XX 與 XY)果蠅	1 瓶
水彩筆	1 支	A 品系雌蟲 x B 品系雄蟲的 F_1 子代果蠅	1 瓶
野生型雌果蠅	1 瓶	B 品系雌蟲 x A 品系雄蟲的 F_1 子代果蠅	1 瓶
野生型雄果蠅	1 瓶		

(4) 廢棄化學藥品和玻璃器材的處理：

實驗室中有四個廢棄物筒，一個裝一般廢棄物，一個液體實驗廢棄物，一個裝固體實驗廢棄物，一個裝破掉的玻璃。

九十九學年度高級中學
全國生物科學科能力競賽

動物組操作及設計試題

得 分



本試卷滿分 100 分

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 (實驗一、二各佔 35 分，實驗三佔 30 分，各實驗的原始配分雖標註為 100 分，總計分數時會按照配分比例核算之)。

材料及實驗設備：

本試卷共分三個實驗題，所提供的材料及儀器設備列於下表，置於標示「動物組」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。

一、材料器材：

實驗一

品名	數量	品名	數量
生理食鹽水	1 管(約 15 毫升)	紅血球稀釋液	1 管(約 6 毫升)
凝集素(Concanavalin A)	1 管(約 5 毫升)	試管架	1 個
A 檢體	1 管(約 1 毫升)	塑膠吸管(1 毫升，共有 4 個刻度，最小刻度為 0.25 毫升)	8 支
B 檢體	1 管(約 1 毫升)	微量離心管(含蓋子)	20 個
C 檢體	1 管(約 1 毫升)	標示筆	1 支
D 檢體	1 管(約 1 毫升)	手套	1 雙
E 檢體	1 管(約 1 毫升)		

附註：各實驗操作題另備有材料及藥品，請詳細比對。

實驗二

品名	數量	品名	數量
動物血液	0.5 毫升	面紙	1 包
玻片	5 片	玻璃毛細管	3 根
玻片保存盒 (5 片裝)	1 個	乳膠手套	1 雙
A, B, C 染液(2 毫升)	分裝於 3 瓶	簡易染色盒	1 個
蒸餾水清洗液(5 毫升)	1 瓶	夾鍊袋	1 個
2B 鉛筆及橡皮擦	各 1 個	一般光學顯微鏡	1 台

實驗三

品名	數量
A-F 未知溶液	有花生四烯酸、白蛋白、甘胺酸、澱粉、維他命 C、檸檬酸六種
反應試劑	①10% NaOH、②0.5% CuSO ₄ 、③寧海準試液(Ninhydrin solution)、④酚酞、⑤甲基紅、⑥DPPH、⑦碘液、⑧ BCA 蛋白質呈色劑。
已知溶液	0.0125%之蛋白質溶液、0.001%之維他命 C 溶液。
24 孔盤	2 個
塑膠吸管	15 支
1ml 定量吸管	2 支
吸球	1 個（附註：不可將溶液吸入吸球內）
100 ml 燒杯	1 個

二、廢棄化學藥品和玻璃器材的處理：

實驗室中有四個廢棄物筒，一個是一般廢棄物，一個是裝液體實驗廢棄物，一個是裝固體實驗廢棄物，一個是裝破掉的玻璃。

本實驗需等待約 40 分鐘，請根據這個特性安排你的實驗進度

實驗一

【血球凝集抑制藥物效價推估試驗】

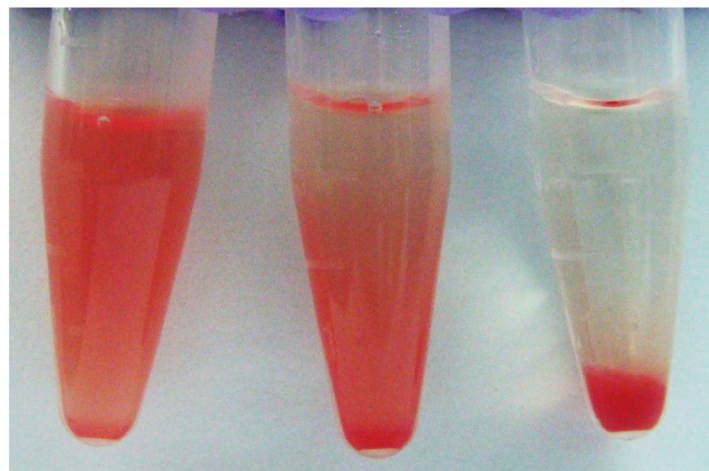
實驗目的：

以血球凝集抑制試驗方法，檢測檢體中是否含有血球凝集抑制成份，並經由系列稀釋試驗推估血球凝集抑制活性的差異。

血球凝集抑制試驗的原理：

凝集素(lectin)是一種具有醣基的醣蛋白，廣泛分佈在動物及植物，包括病毒及細菌等微生物致病原。凝集素可專一性辨認及結合醣分子。某些病毒表面含有其中一類凝集素稱為血球凝集蛋白(hemagglutinin)。藉由辨認結合作用，血球凝集蛋白具有凝集紅血球的能力，促使紅血球凝聚成網狀結構而懸浮於溶液中。若此一血球凝集蛋白與紅血球辨認結合能力受到其他因素干擾抑制時，紅血球無法形成網狀結構，則紅血球受到地心引力影響而沉降聚集在容器底部，俯瞰時如同日本國徽般之形狀，從微量離心管側面觀察的圖形如下圖所示。這種現象即是血球凝集抑制。

表示血球凝集 表示介於凝集與不凝集 表示血球不凝集
+ +/- -



實驗藥品：

生理食鹽水：1 管(約 15 毫升)
凝集素(Concanavalin A)：1 管(約 5 毫升)
A 檢體：1 管(約 1 毫升)
B 檢體：1 管(約 1 毫升)
C 檢體：1 管(約 1 毫升)
D 檢體：1 管(約 1 毫升)
E 檢體：1 管(約 1 毫升)
紅血球稀釋液：1 管(約 6 毫升)

實驗器材：

微量離心管(含蓋子)：20 個
試管架：1 個
塑膠吸管(1 毫升，共有 4 個刻度，最小刻度為 0.25 毫升)：8 支
標示筆：1 支
手套：1 雙

實驗步驟：

- 1、將微量離心管標示為 A1-A5、B1-B5、C1-C5、D1、E1，共 17 管。
- 2、取適量體積 A 檢體，以生理食鹽水配製 5 管不同濃度之稀釋溶液(A1-A5)，每管稀釋後，溶液體積均為 0.25 毫升。
取適量體積 B 檢體，以生理食鹽水配製 5 管不同濃度之稀釋溶液(B1-B5)，每管稀釋後，溶液體積均為 0.25 毫升。
取適量體積 C 檢體，以生理食鹽水配製 5 管不同濃度之稀釋溶液(C1-C5)，每管稀釋後，溶液體積均為 0.25 毫升。
取 0.5 毫升 D 檢體加入 D1 管(1 管)。
取 0.5 毫升 E 檢體加入 E1 管(1 管)。
總共 17 管，其中 A1-A5、B1-B5 及 C1-C5 各管稀釋溶液濃度以稀釋倍數表示(如以 4X 表示稀釋 4 倍)，稀釋方式及稀釋倍數請自行決定。
- 2、接著添加 0.25 毫升凝集素(Concanavalin A)到 A1-A5、B1-B5 及 C1-C5 (總共 15 管)。
- 3、最後，所有 17 管均加入 0.25 毫升紅血球稀釋液(各管最終體積為 0.75 毫升)。

4、室溫下靜置 40 分鐘後判讀。

實驗記錄：

請同學將您操作試驗的判讀結果自行記錄於下表中。

+表示凝集；－表示不凝集；+/-表示介於凝集與不凝集之間

表一(每格 1 分)

A 檢體	A1	A2	A3	A4	A5
稀釋倍數(X) (如以 4X 表示 稀釋 4 倍)					
觀察結果 (+表示凝集；－ 表示不凝集； +/-表示介於 凝集與不凝集 之間)					

表二(每格 1 分)

B 檢體	B1	B2	B3	B4	B5
稀釋倍數(X) (如以 4X 表示 稀釋 4 倍)					
觀察結果 (+表示凝集；－ 表示不凝集； +/-表示介於 凝集與不凝集 之間)					

表三(每格 1 分)

C 檢體	C1	C2	C3	C4	C5
稀釋倍數(X) (如以 4X 表示 稀釋 4 倍)					
觀察結果 (+表示凝集；－ 表示不凝集； +/- 表示介於 凝集與不凝集 之間)					

表四(每格 1 分)

	D1	E1
觀察結果 (+表示凝集；－ 表示不凝集； +/- 表示介於 凝集與不凝集 之間)	-不凝集	+凝集

實驗報告：

- 1、通常實驗都需要包含陽性對照組及陰性對照組。出現血球凝集反應組別為陽性對照組，反之則為陰性對照組。本試驗的對照組別包括 D 檢體及 E 檢體。依正常試驗表四結果，請判定 D 檢體及 E 檢體各屬於哪一種對照組。請填寫於下列表格內：(每格 8 分)

	D 檢體	E 檢體
請填陽性對照組 或陰性對照組	陰性對照組	陽性對照組

2、請依表一至表三結果，判定 A 檢體、B 檢體或 C 檢體，哪些檢體含有血球凝集抑制成份。請填寫於下列表格內：(每格 10 分)

	A 檢體	B 檢體	C 檢體
血球凝集抑制成份(請填有或沒有)	沒有	有	有

3、A 檢體、B 檢體及 C 檢體的原始濃度都相同。請依表一至表三結果，判定哪一種檢體具有最強的血球凝集抑制活性。(每格 10 分)

最強血球凝集抑制活性檢體 (請填 A 檢體、B 檢體或 C 檢體)	B 檢體
--------------------------------------	------

實驗問題：

流感病毒可區分為 A 型流感病毒、B 型流感病毒及 C 型流感病毒。A 型流感病毒又可區分為多種亞型，如 H1N1、H3N2、H5N1 等。流感病毒都具有血球凝集素 (hemagglutinin)，可藉由血球凝集素來吸附感染細胞，也可誘發紅血球凝集反應。除了即時反轉錄聚合酶連鎖反應(real-time reverse transcription polymerase chain reaction)檢測基因序列是鑑別流感病毒亞型的分析利器外，血清學，包括血球凝集抑制試驗也是常規鑑別病毒種類及亞型的方法。但是檢體中若夾雜某些分子可能會干擾反應而造成偽陽性。請問下列分子哪些可能會干擾血球凝集抑制試驗結果的判讀。(每格 2 分)

	三酸甘油酯 (triacylglycerol)	甘露糖 (mannose)	三聚氰胺 (melamine)	膽固醇 (cholesterol)	膠原蛋白 (collagen)	半乳糖 (galactose)
請填會或不會	不會	會	不會	不會	不會	會

實驗二

【從一滴血觀察生物體異常指標的推估試驗】

實驗目的：

以血液抹片方法，檢測生物體內是否因疾病產生異常，並推估該生物體可能罹患之疾病。

血液抹片試驗的原理：

雖然有些疾病的診斷可經由問診或其他視診的檢查找出病因，但大部份疾病需藉由適當的實驗室檢查作為輔助診斷。如發炎及白血球性腫瘤疾病等，可藉由血液抹片進行白血球分類，早期診斷。白血球包括淋巴球(lymphocyte)、單核球(monocyte)、嗜中性球(neutrophil)、嗜酸性球(eosinophil)、嗜鹼性球(basophil)。它們均參與身體的防禦機制，但各有其獨特的發育與功能。前兩者為無顆粒球(agranulocyte)，後三者為顆粒球(granulocyte)又稱為多形核白血球(polymorphonuclear cell, PMN)。當疾病發生時，白血球數及種類可能因此有所變化，可作為生物體內是否因疾病產生異常，並推估該生物體可能罹患之疾病。

實驗器材：

品名	數量	品名	數量
動物血液	0.5 毫升	面紙	1 包
玻片	5 片	玻璃毛細管	3 根
玻片保存盒 (5 片裝)	1 個	乳膠手套	1 雙
A, B, C 染液(2 毫升)	分裝於 3 瓶	簡易染色盒	1 個
蒸餾水清洗液(5 毫升)	1 瓶	夾鍊袋	1 個
2B 鉛筆及橡皮擦	各 1 個	一般光學顯微鏡	1 台

實驗方法：

1. 血液抹片製作 (請參閱圖一)

- 1.1.將裝血液試管瓶蓋打開，取玻璃毛細管沾血液約 50 微升，將毛細管血液端滴於子玻片上(有彩色標籤面)。
- 1.2.另一手取空白母玻片，將母玻片一端貼於血液上，以虹吸現象使血液成一條線平均分佈。
- 1.3.母片與子片呈 30 度角，以手指向前平推至子片末端，推片過程不可中斷，可使血液平均分佈於子片，形成一薄膜狀。
- 1.4.完成後於玻片上之彩色標籤，以鉛筆書寫自己編號於上 (亦可多做 1 片備用)，測驗結束後請與答案卷同時繳交。



Fig. 3.1. Slide method.

圖一、血液抹片推片圖(引用自 Benjamin, 1978)

2. 血液抹片染色製作

- 2.1. 將子玻片風乾後，平放於簡易染色盒上。
- 2.2. 將 A 染色液瓶慢慢擠壓滴出，自中央平鋪於抹片上直至表面張力形成，固定血球 10 秒鐘後，將子玻片上的廢液倒入簡易染色盒底。重覆上述相同步驟用於 B 液及 C 液。
- 2.3. 利用蒸餾水清洗液將玻片上多餘染液洗去，即完成血液抹片染色製作。

3. 白血球分類

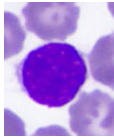
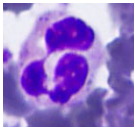
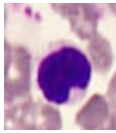
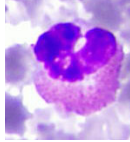
- 3.1. 將血液抹片置於一般光學顯微鏡下，由低至高倍鏡逐步觀察白血球形態。
- 3.2. 於 400 倍視野下依白血球細胞形態不同，分為淋巴球、嗜中性球、單核球、嗜酸性球及嗜鹼性球，以 2B 鉛筆依白血球細胞大小比例繪圖於表一方格內序號 1.1.。
- 3.3. 計數 100 個白血球中，各類白血球所佔之百分比(%)，以 2B 鉛筆記錄於表一方格內序號 1.2.。
- 3.4. 各類白血球所佔之百分比(%) = (各類白血球總數 / 計算之白血球總數) × 100%

附註：表一方格內序號 1.3. 之抹片成品之各類白血球 完整性及正確性 (10%)，完成後的玻片於 測驗結束後請與答案卷同時繳交。

1. 實驗記錄：本報告為各位同學的得分依據，請勿忘了填寫。

請同學將您操作試驗的血液抹片實驗數據以「正」字計數記錄於表一（80 分）。

表一、白血球實驗數據

序號	項目	白血球分類				
		淋巴球	嗜中性球	單核球	嗜酸性球	嗜鹼性球
1.1.	白血球 繪圖 (25 分)					
1.2.	白血球 計數區					
	白血球 (%) (25 分)	90~80 %	10~20 %	1~3%	0 %	0 %
1.3. (此 列考 生不 用填 寫)	抹片成品 之血球完 整性及正 確性 (±10%) (由評審 老師檢視 給分)(30 分)					

2. 實驗判讀：(20 分)

2.1. 各類白血球具有不同之生理功能，請從以下(A-E)選項中選出每一類白血球細胞所具有之生理功能，並請將選項填入下表二 2.1 方格內 (10 分)

(A) 細胞吞噬及殺菌作用，(B)吞噬及消化大分子顆粒及壞死細胞，(C) 誘發立即性過敏反應 (immediate hypersensitivity)，(D) 為血漿中脂質蛋白性脂酶之致活因子，(E) 體液免疫及細胞性免疫。

2.2. 各類白血球異常增多，可能發生之異常反應有(A) 急性化膿性炎症，(B) 慢性感染，(C) 寄生蟲感染，(D) 緊迫，(E) 脂肪血症。請從(A-E)選項中選出每一類白血球細胞異常增多時所代表之異常反應並請將選項填入表二 2.2 方格內)(10 分)

表二、白血球判讀

血球 判讀	白血球				
	淋巴球	嗜中性球	單核球	嗜酸性球	嗜鹼性球
2.1. (10 分)	E	A	B	C	D
2.2. (10 分)	B	A	D	C	E

實驗三

【生物分子之定性及定量試驗】

一、實驗原理：

利用各種化學反應試劑可與不同生物分子反應呈色原理來判別溶液種類及定量其濃度。

二、實驗材料：

1. A-F 未知溶液有：花生四烯酸、白蛋白、甘胺酸、澱粉、維他命 C、檸檬酸六種

2. 反應試劑：

①10% NaOH、②0.5% CuSO₄、③寧海準試液(Ninhydrin solution)、④酚酞、⑤甲基紅、⑥DPPH、⑦碘液、⑧ BCA 蛋白質呈色劑。

3. 已知溶液

0.0125%之蛋白質溶液、0.001%之維他命 C 溶液。

4. 器具及數量：

24 孔盤：2 個

塑膠吸管：15 支

1ml 定量吸管：2 支

吸球：1 個（附註：不可將溶液吸入吸球內）

100 ml 燒杯：1 個

三、做法說明：

以下之定性及定量試驗均在 24 孔盤內完成。

（一）定性試驗：

1、反應種類：

- (1) 縮二脲(Biuret)反應：取 0.5 ml 未知溶液，加入 0.5 ml 10% NaOH 溶液充分反應後，滴入 2 滴 0.5% CuSO₄，震盪均勻，若為蛋白質溶液，即呈紫紅色。
- (2) 寧海準(Ninhydrin)反應：取 0.5ml 未知溶液，加入 0.5 ml 0.1% Ninhydrin 溶液，若溶液呈現藍色，則表示溶液中含有 α -胺基酸。
- (3) 有機酸(Organic acid)反應：取 0.5ml 未知溶液，分別滴入一滴酚酞或甲基紅指示劑，由顏色變化判定此溶液是否為有機酸溶液。
- (4) DPPH 反應：DPPH 為一合成的自由基，當與還原性強的化合物反應後會由藍紫色變黃色。取 0.5ml 未知溶液，加入 0.5 ml DPPH 溶液反應，若反應後變為淡黃色則表示未知溶液為還原性溶液。
- (5) 澱粉反應：澱粉與碘會有明顯的變色反應。

2、將待測 A-F 未知溶液(花生四烯酸、白蛋白、甘胺酸、澱粉、維他命 C、檸檬酸六種)與上述之定性試驗反應後，由其顏色變化判定 A-F 未知溶液為何種溶液。

(二) 定量試驗：

1. 你判定為蛋白質之溶液及已知濃度為 0.0125% 之蛋白質溶液，各取 0.1ml 加入 1%BCA 蛋白質呈色劑 0.9 ml，由反應呈色(反應呈色越深，代表蛋白質濃度越高)配合系列等倍稀釋，請設計實驗來定量你判定的蛋白質溶液其正確濃度為何。實驗過程中你只能將「已知濃度之蛋白質溶液」或「你判定為蛋白質之溶液」擇一作稀釋。
2. 你判定為維他命 C 之溶液及已知濃度為 0.001% 之維他命 C 溶液，各取 0.5 ml 加入 0.5ml DPPH，由反應呈色(反應呈色越淺，代表維他命 C 濃度越高)配合序列等倍稀釋，請設計實驗來定量你判定的維他命 C 溶液其正確濃度為何。實驗過程中你只能將「已知濃度之維他命 C 溶液」或「你判定為維他命 C 之溶液」擇一作稀釋。

四、問題：請將答案填入五、答案欄之正確位置

1. 請問標示為 A 之溶液為何？標示為 C 之溶液為何？ 標示為 E 之溶液為何？
2. 請問未知蛋白質溶液之正確濃度為多少 %？此判定過程你將甲.「已知濃度之蛋白質溶液」或乙.「你判定為蛋白質之溶液」作稀釋？(請填入甲或乙)，你至少稀釋多少倍？才判定出未知蛋白質溶液之正確濃度。
- 3 請問未知維他命 C 溶液之正確濃度為多少%？等於多少 ppm？此判定過程你將甲.「已知濃度之維他命 C 溶液」或乙.「你判定為維他命 C 之溶液」作稀釋？(請填入甲或乙)，你至少稀釋多少倍？才判定出未知維他命 C 溶液之正確濃度。

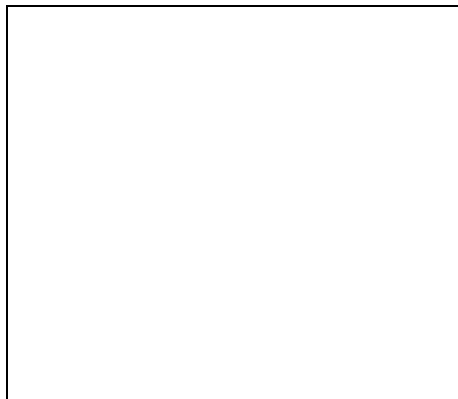
五、答案欄：100%

1. 花生四烯酸 白蛋白 維他命 C
2. 0.1% 乙 8
3. 0.00025% 2.5 甲 4

九十九學年度高級中學
全國生物科學科能力競賽

植物組操作及設計試題

得 分



本試卷滿分 100 分

九十九學年度高級中學數學及自然學科能力競賽

生物科決賽試卷

植物組實驗設計與操作

競賽說明：

本競賽手冊共有兩題，均為實驗操作題，請依所指定器材及藥品動手操作，並將答案填寫於規定位置。實驗時請根據實驗需要來安排時間及實驗順序。試卷應逐頁填寫學生編號。本試卷配分 100 分。

材料及實驗設備：

本實驗競賽所提供的材料及儀器設備列於下表，置於具有「植物組」標示的塑膠籃中，請檢查各組器材，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。

一、共用試藥器材：（置於講台上，如有需要請自行取用）

蒸餾水	衛生紙	擦手紙
拭鏡紙	乳膠手套	濾紙

二、各組材料器材：

光學顯微鏡	1 台	載玻片	10 片
10 ml 量筒	1 個	蓋玻片	20 片
100 ml 燒杯	1 個	500 ml 燒杯	1 個
鑷子	1 支	單刀刀片	1 支
衛生紙隨身包	1 包	自黏標籤	1 張
塑膠吸管(有刻度)	3 支	培養皿(5~9 cm)	4 個
油性筆	1 支		
實驗一器材*	1 組	實驗二器材*	1 組

*：實驗一器材與實驗二器材進行檢視，請立即翻至實驗操作題部分查核

三、廢棄化學藥品和玻璃器材的處理：

實驗室中有四個廢棄物筒，一個是一般廢棄物，一個是裝液體實驗廢棄物，一個是裝固體實驗廢棄物，一個是裝破掉的玻璃。

第一題：【植物細胞滲透潛勢測定】

實驗所需要的器材及藥品都已放在桌上，請按照上述各組材料器材及下表的清單清點。若有缺少請舉手告訴評審老師，桌上的藥品及器材用完後，將不再補充。實驗完畢後，請將用過的器材清洗乾淨並放置整齊。本實驗配分 50 分。

一、原理

將植物細胞置於高濃度的溶液裡處理一段時間，若細胞內溶質濃度低於外液，細胞內的水向細胞外滲透，造成植物細胞失水萎縮，進而與細胞壁發生剝離，此一現象稱為原生質膜分離(原生質離，plasmolysis)。利用鏡檢的方式觀察植物細胞發生原生質膜分離的細胞數，並將視野中 50%的細胞發生原生質膜分離時定義為「起始原生質膜分離」，此時溶液的滲透潛勢等於細胞的滲透潛勢。由於不易找到正好引起 50%細胞發生原生質膜分離的濃度，因此可利用內插法求得發生原生質膜分離的濃度，再代入凡特荷夫公式(Van't Hoff formula)，即可求得起始原生質膜分離時的滲透潛勢。

二、器材與試劑

1. 器材：顯微鏡、載玻片、蓋玻片、鑷子、刀片、小培養皿、試管、標示筆(作記號之用)和滴管。
2. 試劑：0.4 m (molality)蔗糖溶液 40 ml。
3. 植物葉片：紫背萬年青

三、實驗方法與步驟

1. 利用 0.4 m 蔗糖溶液稀釋配製不同濃度的蔗糖溶液各 10 ml，裝於試管中。
2. 取培養皿用筆編號後，將配製好的蔗糖溶液由試管倒入各個培養皿中。
3. 以刀片切下 3 個約 0.5 cm² 大小的紫背萬年青葉的下表皮細胞，分別浸入不同濃度的蔗糖溶液中，靜置 30 分鐘。
4. 30 分鐘後，取出葉下表皮細胞置於載玻片上，再滴上一滴同濃度的蔗糖溶液，蓋上蓋玻片。
5. 在顯微鏡下觀察原生質膜分離的細胞數和細胞總數，填入結果表中。(僅量選取保衛細胞數較少的視野觀察)
6. 以內插法找出 50%細胞發生原生質膜分離時細胞外溶液的濃度，此濃度即為細胞的溶質濃度。內插法求細胞溶質濃度的公式為：
$$m = m_1 + (50\% - p_1)(m_2 - m_1)/(p_2 - p_1)$$

式中 m 為細胞的溶質濃度， m_1 引起 p_1 原生質膜分離的濃度， m_2 為引起 p_2 原生質膜分離的濃度， p_1 為由 m_1 溶液引起原生質膜分離百分率， p_2 為由 m_2 溶液引起原生質膜分離的百分率。

7. 以凡特荷夫公式(Van't Hoff formula)計算一大氣壓下的滲透潛勢，所得的滲透潛勢即為葉片表皮細胞之滲透潛勢。 R 為理想氣體常數， $R=0.082 \text{ atm}\cdot\text{L} / \text{mol}\cdot\text{K}$ ； $R=0.008314 \text{ kg MPa} / \text{mol}\cdot\text{K}$

四、實驗結果與問題

1. 結果表：

蔗糖溶液濃度 (molality)	原生質分離的細胞數	細胞總數	相對原生質分離程度(%)

2. 利用內插法求得紫背萬年青葉下表皮細胞的溶質濃度(m)？

答：

3. 計算葉下表皮細胞之滲透潛勢？

答：

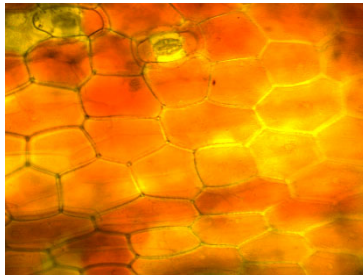
本題參考答案：

植物細胞滲透潛勢測定-原生質膜分離(plasmolysis)法

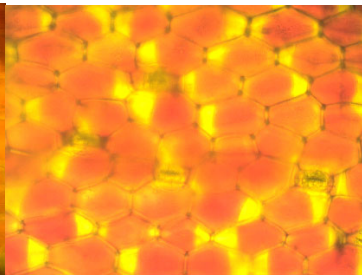
實驗結果

1. 表一

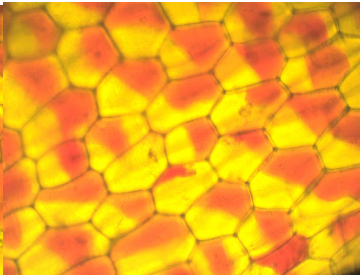
溶液濃度 (molality)	原生質分離的細胞數	細胞總數	相對原生質分離程度 (%)
0.20	1.7±2.4	29.5±6.6	5.9% (圖一)
0.25	18.0±2.7	32.3±4.2	55.8% (圖二)
0.30	26.8±3.6	28.0±1.1	95.5% (圖三)



圖一



圖二



圖三

2. 內插法求細胞滲透濃度的公式為：

$$m = m_1 + (50\% - p_1)(m_2 - m_1) / (p_2 - p_1)$$

式中 m 為細胞的滲透濃度， m_1 引起 p_1 原生質膜分離的濃度， m_2 為引起 p_2 原生質膜分離的濃度， p_1 為由 m_1 溶液引起原生質膜分離百分率， p_2 為由 m_2 溶液引起原生質膜分離的百分率。

$$m = 0.20 + (50\% - 5.9\%)(0.25 - 0.20) / (55.8\% - 5.9\%) = 0.244 \text{ (mol/kg)}$$

3. 求得 m 按凡特荷夫公式(Van't Hoff formula)計算滲透潛勢：

$$\psi_s = -imRT$$

ψ_s 為細胞滲透潛勢(MPa)； R 為理想氣體常數(0.0083 MPa·kg / mol·K 或 0.082 atm·kg / mol·K)； T 為絕對溫度(273+t °C)； i 為凡特荷夫因子，蔗糖為 1。

若當日氣溫為 17 °C，則：

$$\psi_s = -(1)(0.244)(0.0083)(273+17) = -0.587 \text{ (MPa)}$$

$$\text{或 } \psi_s = -(1)(0.244)(0.082)(273+17) = -5.802 \text{ (atm)}$$

第二題：【可否利用呼吸酵素檢視植物維管束的分化部位？】

實驗所需要的器材及藥品都已放在桌上，請按照上述各組材料器材及下表的清單清點。若有缺少請舉手告訴評審老師，桌上的藥品及器材用完後，將不再補充。實驗完畢後，請將用過的器材清洗乾淨並放置整齊。本實驗配分 50 分。

一、實驗器材及藥品

材料及藥品	數量
P1、P2 兩种植物材料	各 1 份
95%酒精	1 ml(裝於小離心管內)
呈色劑 Nitroblue tetrazolium chloride (NTC)	1 ml(裝於小離心管內)
空白小離心管	4 管

二、實驗內容

Nitroblue tetrazolium chloride(NTC)是一種 Tetrazolium 鹽類，它可以做為植物細胞在電子傳遞路徑中的電子接受者，而被還原呈藍色。植物體根或莖的生長，某些細胞的粒線體因要產生能量，於其內模大量進行電子傳遞，因此本實驗藉由 NTC 此簡單迅速的方法檢查並了解氧化還原酶之存在及其分佈位置，進而瞭解植物體各組織的差異性呈色，並探討利用呼吸酵素檢視植物組織分化的可能性。

三、實驗步驟及結果

1. 以刀片將 P1 及 P2 兩种植物材料 **中段部位橫切**，另取 P1 植物材料 **頂端 1 cm 範圍內**的部位橫切或縱切。
2. 置入含有 1ml 呈色劑的小離心管中。
3. 靜置 5~10 分鐘。(舉手請評審人員協助溫度處理)。
4. 取出切片，以 95%酒精固定（含脫色、中止反應）2~5 分鐘。
5. 取出切片，置入清水中 2 分鐘，以去除酒精。
6. 取出切片，置於載玻片上，滴上少許清水。蓋上蓋玻片，將載玻片置於顯微鏡下，觀察染色部位（40X~100X）。
- 7.繪圖並標示兩植物材料各組織名稱於下表：(20 分)

P1 植物材料 <i>中段部位</i> 橫切圖	P2 植物材料 <i>中段部位</i> 橫切圖
P1 植物材料 <i>接近頂端部位</i> 橫切圖	P1 植物材料 <i>接近頂端部位</i> 縱切圖
<u>其他</u>	<u>其他</u>

四、問題與討論（請填寫在劃線處）

1.P1 及 P2 兩植物橫切材料在呈色後，兩者呈色部位在哪些組織？你如何判斷有顏色的改變？(10 分)

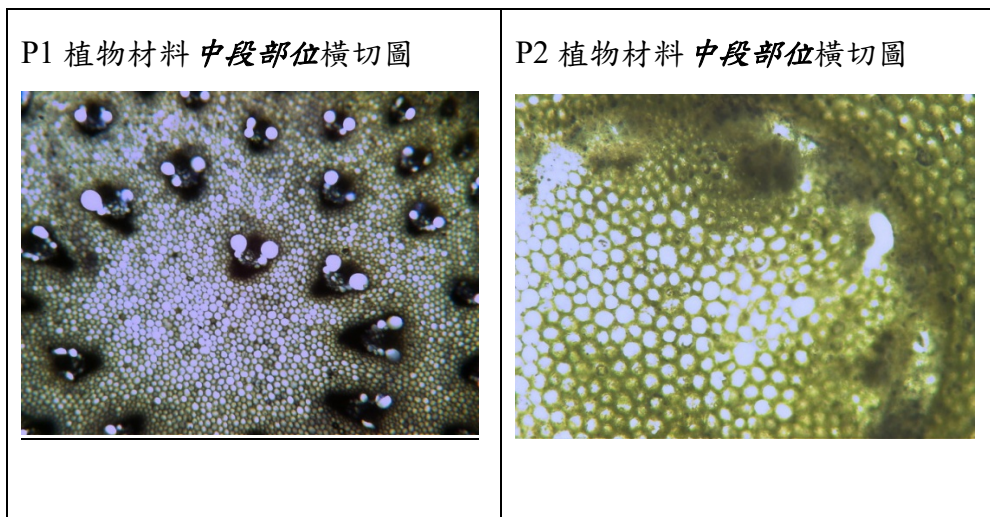
2.承上題，兩植物材料分別是植物的哪一器官？是單子葉植物還是雙子葉植物？理由是什麼？(10 分)

3.根據 P1 植物材料之實驗結果，可否利用呼吸酵素檢視植物維管束分化的位置及相關訊息？並簡單說明其理由。(10 分)

本題參考答案：

可否利用呼吸酵素檢視植物維管束的分化部位？

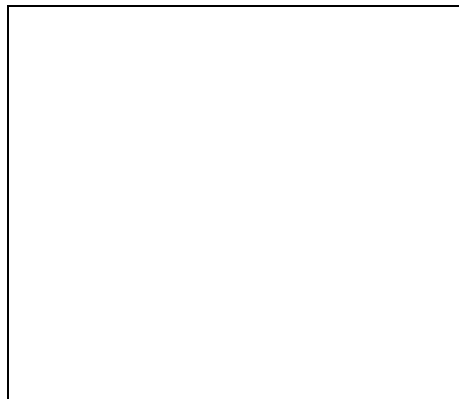
1. 本題 P1、P2 兩種植物材料分別為單子葉植物的莖及雙子葉植物的根，其判斷依據主要以維管束的環生或散生及內皮的有無來判斷。
2. NTC 作用(藍色)的主要部位在韌皮部，可能是因為主動運輸需要呼吸作用來提供大量的能量(其他部位顏色很淡或需較長時間的 NTC 處理)。比較時應以 NTC 處理與未處理的切片說明之。繪圖時除染色部位要標示外，應把各種組織及部位標示之(如表皮組織、基本組織、維管束組織、形成層、內皮、中柱)。
3. P1 植物材料末端不論橫切、縱切均無明顯的染色部位，代表此區無維管束的分化或分化不完全，因此利用呼吸酵素應有檢視植物維管束的分化部位之可能性。
4. 參考圖：



九十九學年度高級中學
全國生物科學科能力競賽

遺傳演化組操作及設計試題

得 分



本試卷滿分 100 分

本試卷提供之器材及其數量

- 1.A 品系：突變性染色體(X^X 與 X^Y)果蠅 1 瓶。雌蟲的性染色體是由兩條 X 染色體癒合成一個複合染色體(X^X)組成，雄蟲的性染色體是由一條 X 和一條 Y 癒合成一個複合染色體(X^Y)組成。(註： $^$ 表示二條染色體癒合在一起)
- 2.B 品系：正常性染色體(XX 與 XY)果蠅 1 瓶
- 3.A 品系雌蟲 x B 品系雄蟲的 F_1 子代果蠅 1 瓶
- 4.B 品系雌蟲 x A 品系雄蟲的 F_1 子代果蠅 1 瓶
- 5.野生型雌果蠅和雄果蠅各 1 瓶
- 6.果蠅麻醉器材(共用，請至講台請試務人員協助操作)
- 7.放大鏡 1 支
- 8.紙卡 1 張
- 9.水彩筆 1 支

果蠅的性別決定

一、背景介紹

動物的性別決定機制很多元化。例如，哺乳動物主要是由 Y 染色體的有無決定，而果蠅是由 X 染色體的數量決定。1 條 X 為雄果蠅，二條 X 為雌果蠅。具有下列性染色體型式的果蠅個體無法存活，例如 XXX、Y 和 YY。此外，果蠅有很多特殊的遺傳突變品系，可用來研究各種遺傳問題。

本實驗利用數種不同性染色體型式的果蠅品系為材料，觀察果蠅突變與性別之關係及其遺傳模式。

二、實驗材料

- 1.A 品系：突變性染色體(X^X 與 X^Y)果蠅 1 瓶。雌蟲的性染色體是由兩條 X 染色體癒合成一個複合染色體(X^X)組成，雄蟲的性染色體是由一條 X 和一條 Y 癒合成一個複合染色體(X^Y)組成。(註： $^$ 表示二條染色體癒合在一起)
- 2.B 品系：正常性染色體(XX 與 XY)果蠅 1 瓶
- 3.A 品系雌蟲 x B 品系雄蟲的 F₁ 子代果蠅 1 瓶
- 4.B 品系雌蟲 x A 品系雄蟲的 F₁ 子代果蠅 1 瓶
- 5.野生型雌果蠅和雄果蠅各 1 瓶
- 6.果蠅麻醉器材(共用，請至講台請試務人員協助操作)
- 7.放大鏡 1 支
- 8.紙卡 1 張
- 9.水彩筆 1 支

三、實驗步驟

- 1.先將要觀察的果蠅麻醉。
- 2.利用水彩筆將麻醉後之果蠅，移至放大鏡進行觀察。比較各瓶中的雌蟲和雄蟲在眼睛顏色、眼睛形狀和身體顏色是否和野生型果蠅有差異。
- 3.回答以下問題。

四、問題

1.請將你觀察到的 A、B 品系和他們的 F₁ 子代的外部形態突變，就眼色、眼形和體色，和野生型果蠅比較，填入以下欄位。(21 分)

性別 品系	雌果蠅	雄果蠅
A 品系 [C(1)RM, y ¹ pn ¹ y ¹ /0 & C(1;Y)*, y ¹ B ¹ /0]	眼形：圓眼形[野生型] 體色：黃(淡)體色	眼形：棒狀眼 體色：黃(淡)體色
B 品系 [野生型：Canton-S]	眼形：圓眼形[野生型] 體色：深體色[野生型]	眼形：圓眼形[野生型] 體色：深體色[野生型]
A 雌 x B 雄的 F ₁ 子代 [雌：X ⁺ XY，和 A 品系雌相同] [雄：X，和 B 品系相同]	眼形：圓眼形[野生型] 體色：黃(淡)體色	眼形：圓眼形[野生型] 體色：深體色[野生型]
B 雌 x A 雄的 F ₁ 子代 [雌：XX ⁺ Y] [雄：X，和 B 品系相同]	眼形：腎形眼 體色：深體色[野生型]	眼形：圓眼形[野生型] 體色：深體色[野生型]

2. 請用棋盤方格法，寫出 A 品系 x B 品系的實驗中，配子的性染色體型式及組成各種可能的合子。請在合子 1-4 下方中的三空格依序填入 (a) 性染色體型式；(b) 可否存活；(c) 若可活寫出其性別；若不可存活，此空格填入“—”。(64 分)

A 雌 x B 雄：

B 雄	雄配子 1 的性染色體型式：			雄配子 2 的性染色體型式：		
A 雌	<u>X</u>			<u>Y</u>		
雌配子 1 的性染色體型式：	合子 1：			合子 2：		
<u>X⁺X</u>	X ⁺ XX	死	-	X ⁺ XY	活	雌
雌配子 2 的性染色體型式：	合子 3：			合子 4：		
<u>- (or O)</u>	X(O)	活	雄	Y(O)	死	-

B 雌 x A 雄：

B 雌 \ A 雄	雄配子 1 的性染色體型式： <u> X^AY </u>			雄配子 2 的性染色體型式： <u> - (or O) </u>		
	雌配子 1 的性染色體型式： <u> X </u>			雌配子 2 的性染色體型式： <u> X </u>		
		合子 1：			合子 2：	
		XX^AY	活	雌	$X(O)$	雄
		合子 3：			合子 4：	
		XX^AY	活	雌	$X(O)$	雄

3. 假設你所觀察到的這些外部形態突變，都位在 X 染色體上，根據上述的實驗結果，你認為 (a) 從那種配對實驗 (b) 那種 F₁ 子代 (c) 那種外部形態突變的顯隱性是可以區分的；(d) 此突變是顯性、隱性或共顯性呢？(15 分)

- (a) B 雌 x A 雄的配對實驗 (4 分)
- (b) F₁ 雌蟲 XX^AY (只有這種為異結合型合子) (4 分)
- (c) 眼形 (棒狀眼、腎形眼) (4 分)
- (d) 共顯性 (3 分)