

考生編號_____ 分數_____

2019 年中華民國生物奧林匹亞選拔營實作試題

第 4 試場 實作 A

植物生理學實作題

種子浸潤的生理表現(50 分)

一、實驗材料：			
種子(綠豆)之前處理			
A 回乾組種子：浸潤 12 小時後風乾存放一天，再浸潤 2 小時後進行實驗			7 顆
B 控制組種子：浸潤 2 小時後進行實驗			7 顆
C 回乾組：澱粉酶萃取液 1.5ml (冰桶內)			1 管
D 控制組：澱粉酶萃取液 1.5ml (冰桶內)			1 管
二、實驗器材及藥品：			
實驗器材	數量	藥品溶液	數量
1. 鑷子	1 支	1. 碘液	10ml
2. 單面刀片	1 個	2. 0.04% 澱粉液(starch)	15ml
3. 微量吸管 P1000	1 支	3. TTC 溶液(避光)	3.5ml
4. 微量吸管 P200	1 支	4. 蒸餾水(去離子水)	15ml
5. 微量吸管尖 P1000	1 盒	5. 50% TCA(避光)	2ml
6. 微量吸管尖 P200	1 盒	6. 尺	1 把
7. 奇異筆	1 支	7. 培養皿 A(含濾紙)(標考號)	1 個
8. 比色管(Cuvette)	6 支	8. 培養皿 B(含澱粉洋菜膠)(標考號)	1 個
9. 1.5 ml 離心管	6 支		
10. 15ml 離心管	3 支		
11. 滴管 3ml	1 支	共用器材：	
11. 計時器(請勿自行設定)	1 台	1. 分光光度計(共用)	
12. 鋁箔紙	1 台	2. 離心機(共用)	
13. 計算機	1 台		
14. 膠帶	1 個		
15. 手套	1 雙		

※ 請注意：

1. 請檢查題目上的考生編號與你的考號是否相同。
2. 桌上的材料及器材用完後，將不再補充。
3. 本試卷(含封面、試題卷)共 6 頁，於交卷時全部繳回。
4. 本試場含實作 A 及實作 B，作答時間共為 90 分鐘
5. 請於本卷上作答，試題答案可寫在試卷背面，但請註明並標上題號。

三、實驗及原理說明：

週六早上小明把老師千辛萬苦才拿到的珍貴種子泡水浸潤，準備在老師的指導下進行科展實驗研究，等了很久卻接到老師打來的緊急電話，老師說臨時有急事科展實驗必須延後。小明一聽驚呆了許久，才趕緊把浸潤數小時的種子撈起來風乾存放。過幾日老師終於有空指導小明進行科展實驗，小明拿出風乾的種子告知老師原委，擔心種子的活力受影響。老師想了一陣子後決定帶領小明進行種子浸潤的生理研究，以呼吸作用活力(TTC)、澱粉降解能力與澱粉酶活性等實驗方法檢測並探討浸潤回乾處理對種子活力影響的相關實驗。老師叫小明把綠豆種子泡水浸潤 12 小時後取出自然風乾當做回乾處理組，另取一些完全未處理的種子當做控制組，將這兩組種子分別泡水浸潤 2 小時後進行實驗研究。以下是小明的實驗原理及步驟，請妳/你瞭解並跟著做：

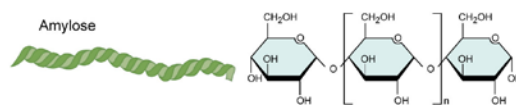
TTC 種子活性檢測法實驗原理

TTC 是種子快速檢測活性常用的一種方法；TTC 為氯化三苯基四氮唑（2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride）的簡稱，其測試的原理是 TTC 的氧化型為無色可溶性，活細胞內的去氫酶會藉由呼吸作用產生的電子和氫原子將無色的 TTC 還原為紅色化合物三酚甲臍（triphenyl formazan），而死細胞內因缺乏去氫酶就不會有任何呈色反應，此變色特性可用以測試種子內各部位之呼吸作用之強度。

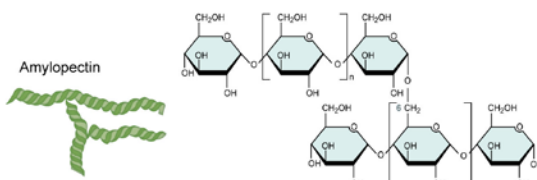
澱粉降解能力實驗原理

此實驗主要是觀察綠豆種子於浸潤回乾處理，澱粉酶在種子中的表現。植物種子浸潤吸飽水分時，胚乳產生澱粉酶以分解胚中的澱粉。澱粉酶是一種酵素（蛋白質），其功能約為將大分子澱粉分解為小分子的碳水化合物。澱粉是由澱粉醣（Amylose）及膠澱粉（Amylopectin）組成的大分子化合物。其中澱粉醣（Amylose）由葡萄糖分子以 $\alpha(1-4)$ 直鏈排列構成；膠澱粉（Amylopectin）則由含有磷酸根的 $\alpha(1-6)$ 支鏈構成（如下圖）。碘離子（ I_5^- ）能夠與澱粉醣反應的呈藍色、與膠澱粉反應的呈紅紫色，稱為碘—澱粉反應。若碘—澱粉的顏色消退愈大，就代表澱粉降解愈多。

澱粉醣



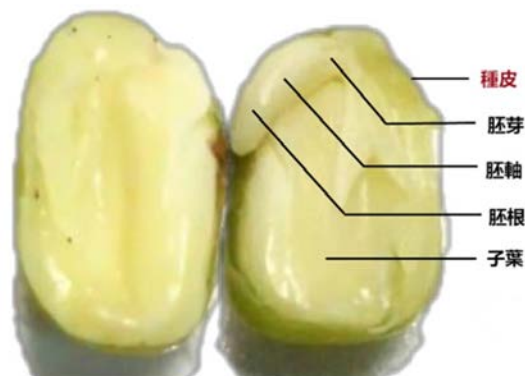
膠澱粉



澱粉酶(α -Amylase)活性檢測法實驗原理

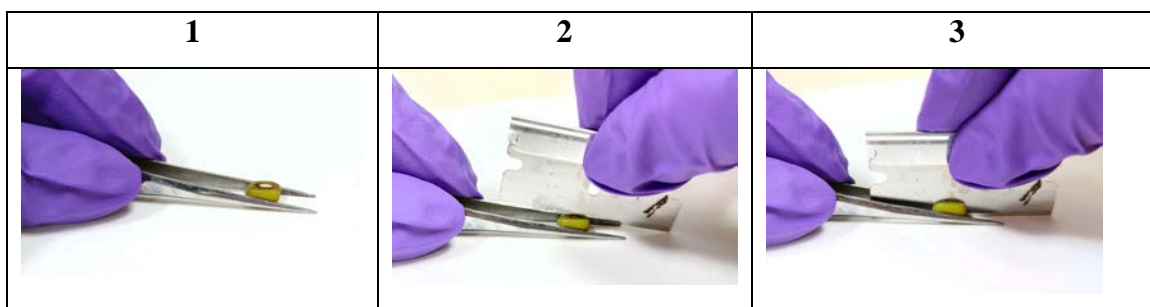
α -Amylase 是澱粉的分解酵素，澱粉酶的水解作用是單向不可逆的，其作用產物為麥芽糖 (maltose)。碘—澱粉反應中，碘液與澱粉形成之化合物在波長 490 nm 處，具有最大吸光度可用於定量。本實驗利用由供試種子萃取的酵素溶液與澱粉液反應，再以碘液測定澱粉消耗量，藉以推算樣品之酵素活性。

四、實驗方法：



圖一、浸潤 12 小時後綠豆種子縱切圖

✦將回乾組與控制組並已泡水浸潤 2 小時的種子，請各選取五顆，請按照圖片 1,2,3 方式分別剖半(如圖一)。



A. 呼吸作用活力檢測：請先將 TTC 溶液 3.5mL 加入培養皿 A 中，將培養皿 A 放置於圖二上，將 5 顆剖半的種子依方格順序放入種子（請把同一顆種子一半放在培養皿 A，另一半放在培養皿 B 的相對應位置），培養皿 A 蓋上鋁箔紙(避光)後靜置 15 分鐘，完成舉手請助教拍照並請記錄觀察到的反應結果。

B. 澱粉降解能力：

- (1) 請將培養皿 B 放置於圖二上，將剖半後之另一半種子的切面平貼於含澱粉洋菜膠培養皿 B 依圖二的格子放入，靜置 15 分鐘
- (2) 利用 3ml 滴管，加入碘液 3mL 後左右搖晃 5 次(請勿濺出)，放置 5 分鐘後，請先將碘液倒入廢液杯
- (3) 延著膠盤邊緣小心地加入 2 mL 的去離子水沖掉碘液，左右搖晃 2 次後將廢液倒入廢液杯中，本步驟請重覆 5 次
- (4) 使用去離子水，退染 5 分鐘，將水瀝乾後倒放紀錄。
- (5) 把培養皿 B 移到圖二上的格子，舉手請助教拍照並記錄種胚部位的澱粉洋菜膠的碘-澱粉之藍色反應的褪色環直徑。

C. 澱粉酶活性檢測：

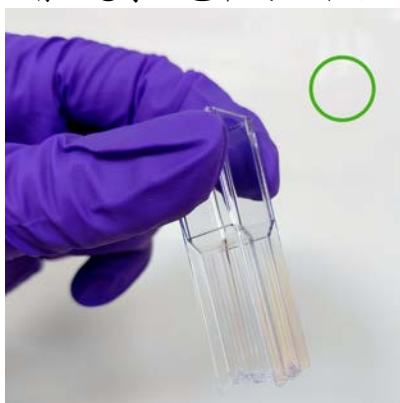
取我們所提供回乾組及控制組種子已研磨萃取的樣品 C、D 萃取液，進行下列實驗：

- (1) 取 0.5 mL 回乾組及控制組的萃取液樣品分別加入 3.0 mL 0.04% 澱粉液，(另做一空白組以蒸餾水代替萃取液樣品進行上述相同反應)，作用 10 min。
- (2) 將此作用過的澱粉液取 1ml 至微量離心管中，加入 200 μ l 碘液均勻混合待呈色後，再加入 300 μ l TCA 終止反應再次混合均勻。
⚡ (混合放方式:用大姆指、食指壓著左右搖晃 5 次，如圖三)
- (3) 離心(11000rpm、5 分鐘)取上清液，再以分光光度計測 OD490 的吸光度，記錄之。(使用離心機及分光光度計時請到共用區，遵照助教指示操作)
- (4) 本實驗從第 2 步驟後，各取 1ml*2 做雙重覆。
- (5) 紀錄分光光度計之 OD490 吸光值，並以單位時間吸光值改變量來計算澱粉酶活性(α -Amylase activity)。

計算 α -Amylase activity (Δ OD490/ min)

=(空白組 OD490 吸光值 - 回乾組或控制組 OD490 吸光值) / 反應時間

請注意拿比色管的正確方法



圖三

三、實驗結果：(合計分數 20 分)

呼吸作用活力檢測(5分)	
控制組	回乾組
請敘述	請敘述

澱粉降解能力檢測(5分)											
控制組						回乾組					
顆粒	1	2	3	4	5	顆粒	1	2	3	4	5
長：						長：					
寬：						寬：					

澱粉酶活性檢測結果(10分)						
試管編號	1	2	3	4	5	6
	一重覆			二重覆		
	空白組-1	回乾組-1	控制組-1	空白組-2	回乾組-2	控制組-2
OD490 nm						
澱粉酶活性 α -Amylase activity						

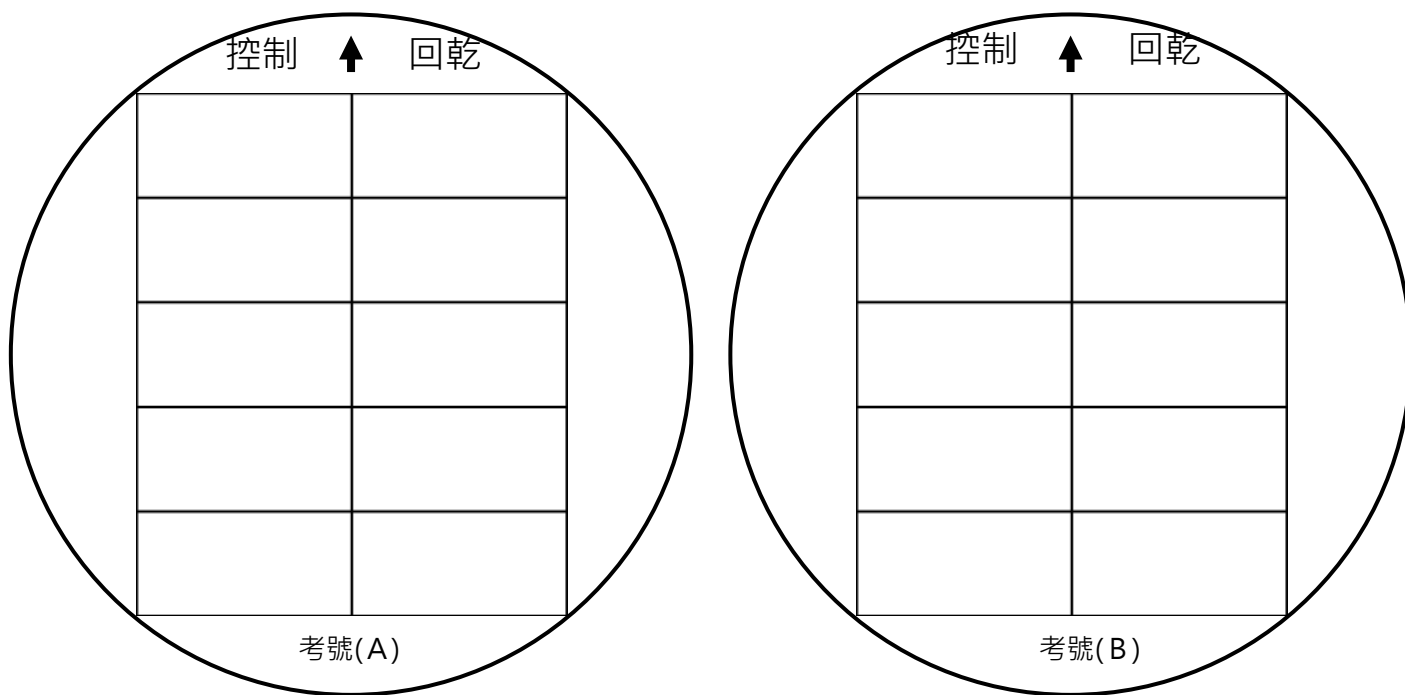
請將原始數據用膠帶貼於下方

四、請回答下列問題：(合計分數 30 分，每小題 10 分)

1. 浸潤回乾處理對種子活力的影響如何？其實驗證據為何？

2、小明拿敏豆做相同的研究，實驗結果卻幾乎相反，妳/你認為可能原因是什麼？妳/你認為種子的浸潤回乾處理在農業上的用途有可能是什麼？理由為何？

3、小明做完上述實驗後，因準備考試停滯了三週才回去繼續科展實驗，他把上次綠豆的已浸潤種子，拿來驗證上次浸潤回乾處理對種子活力的影響，結果發現其種子已幾乎完全無活力，妳/你推測原因是什麼？



圖二、請將培養皿 A 及 B 放於圖上，依實驗步驟順序放入剖半的綠豆，請把同一顆種子一半放在培養皿 A 一半放在培養皿 B，請於蓋子上標註中間分隔線、控制組及回乾組

考生編號_____

分數_____

2019 年中華民國生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

第 4 試場 實作 B

植物學實作題

材料及器材：

器材	數量
1. 圖 1 (B4 紙)	共 5 張
2. 圖 2 (B4 紙)	共 3 張
3. 計算機	1 台

※ 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)共 9 頁，於交卷時全部繳回。
3. 本試場含實作 A 及實作 B，作答時間共為 90 分鐘
4. 請於本卷上作答，試題答案可寫在試卷背面，但請註明並標上題號。

阿信是一個植物生態學家，有一次坐船出海時，不小心遇到海難，獨自一人漂流到一個熱帶火山島上，在等待救援的時候，因為實在太過無聊，所以他就調查了島嶼上所有的樹木，並將每一棵樹木的種類與位置記錄下來，如圖 1 所示，而不同種樹木各別的分布圖則請見圖 2。這座島嶼大小為 25 公頃的方形小島 (500 m × 500 m)，島上總計有 10 種樹木，阿信分別用不同的字母代表這 10 種樹木，並統計了這些樹木在島嶼上的數量(圖 3)，島上最常見的樹種是 A，在島上有超過 300 棵植株，而島上數量最少、最稀有的樹種則是 I 和 J，各只有 4 棵樹。

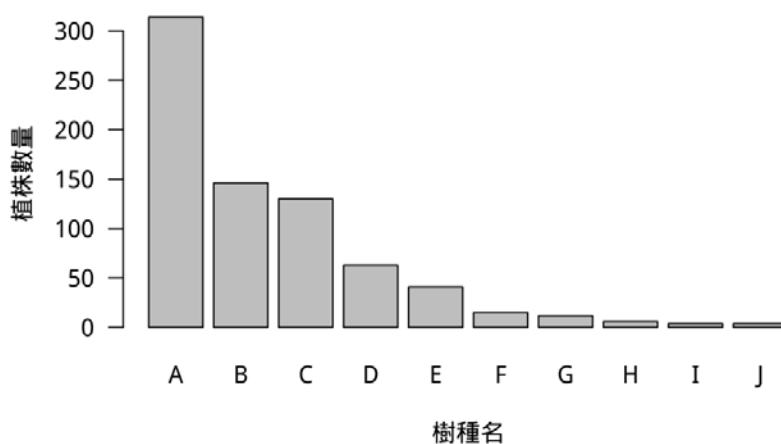


圖 3、阿信所在島嶼上 10 種樹木的植株數量統計

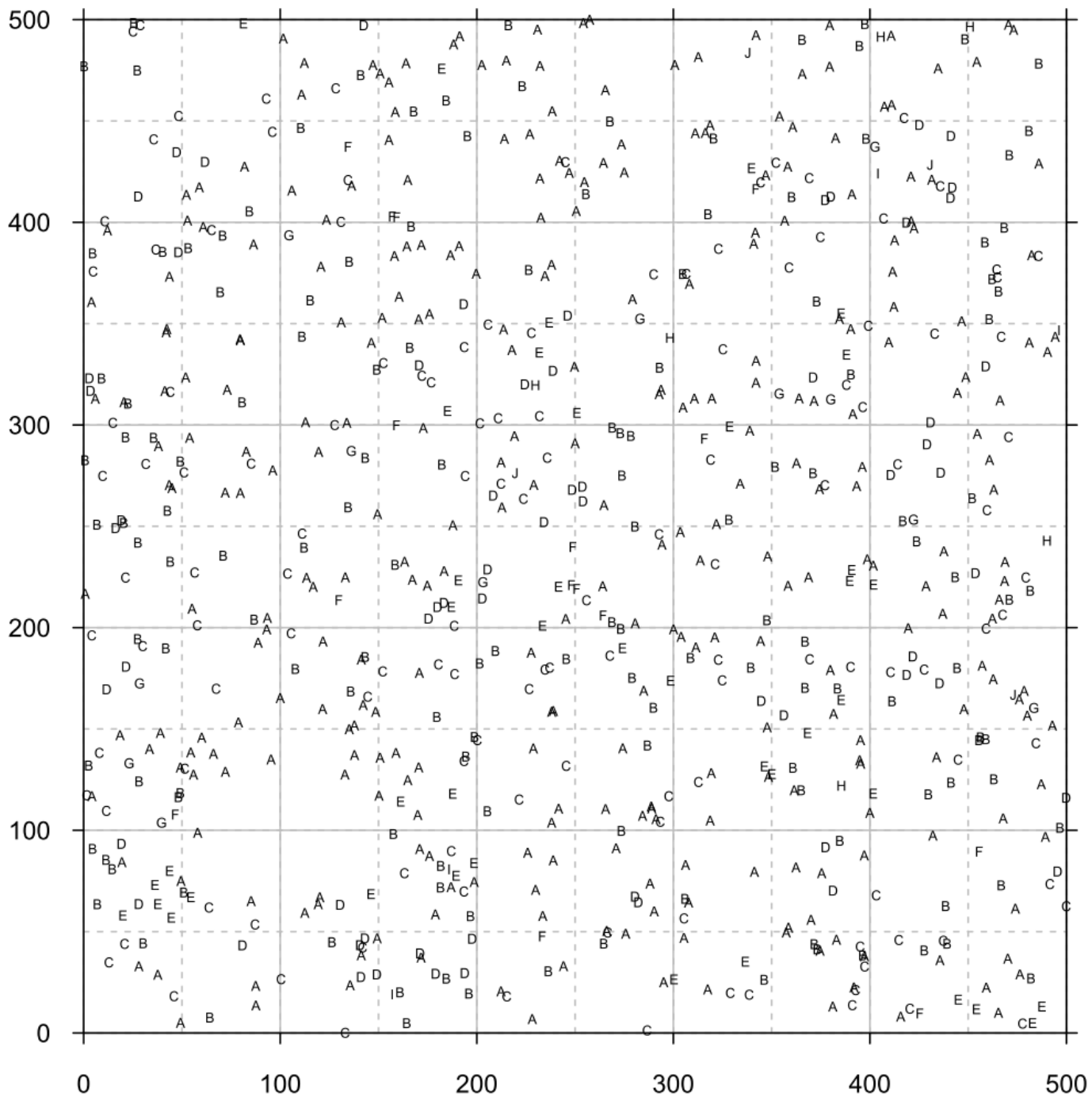


圖 1、阿信在島嶼上所調查到的每一棵樹木的位置與種類，不同樹種使用不同的字母標示之。這個島嶼的大小為 500 m × 500 m。

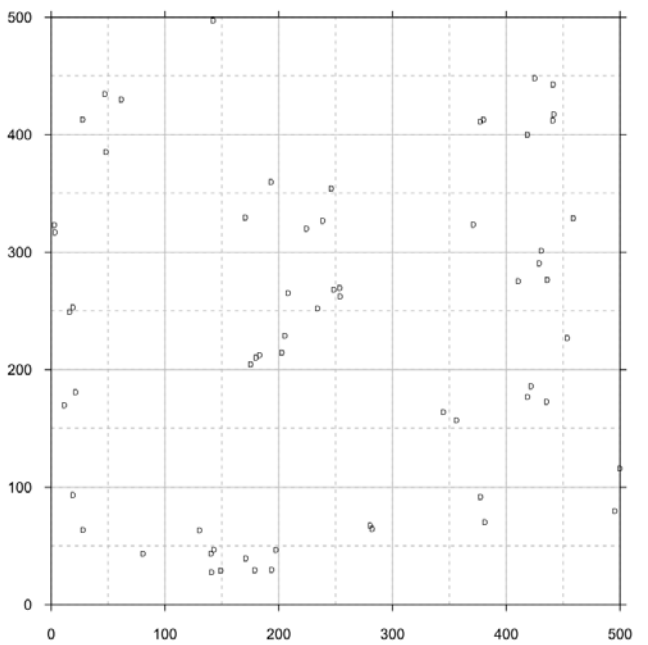
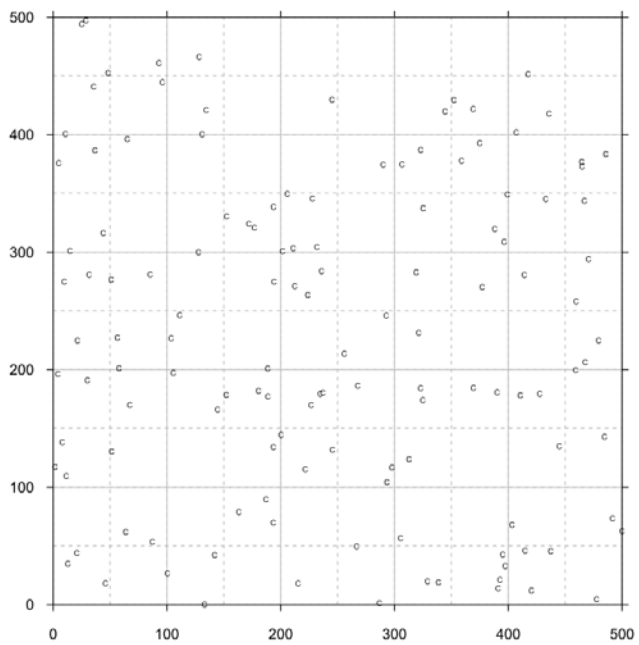
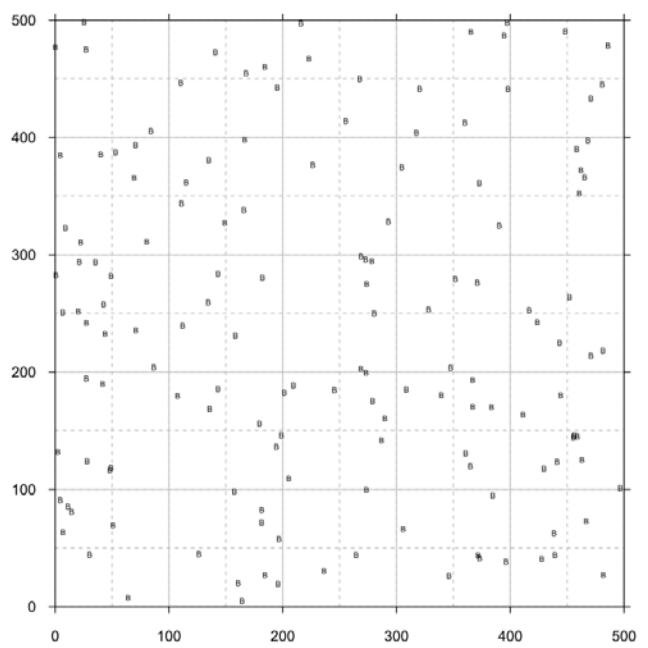
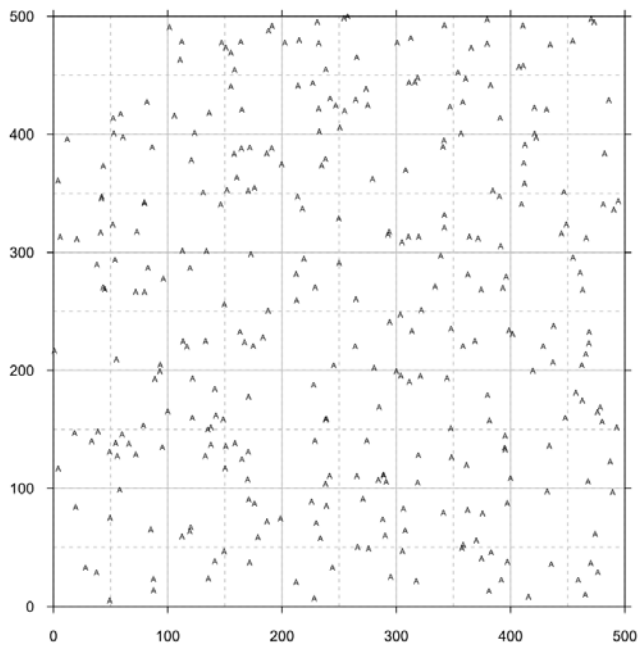


圖 2、阿信所在的這個島嶼上不同樹種的空間分布圖。這個島嶼的大小為 500 m × 500 m。

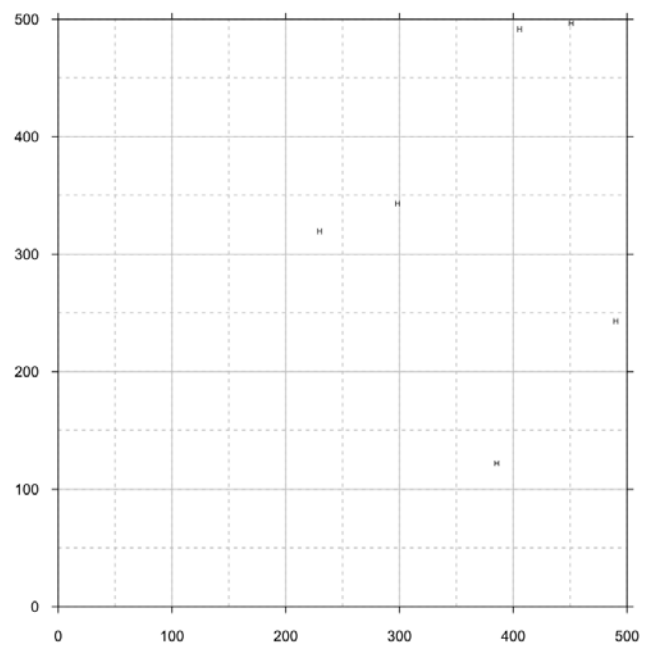
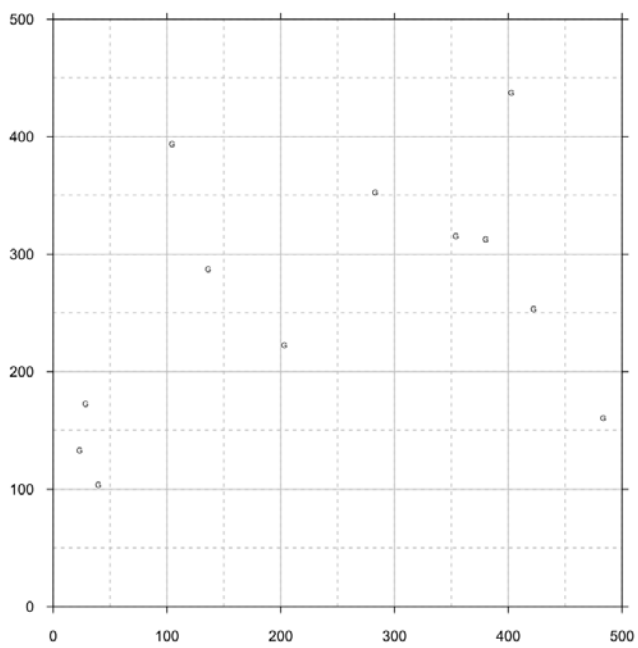
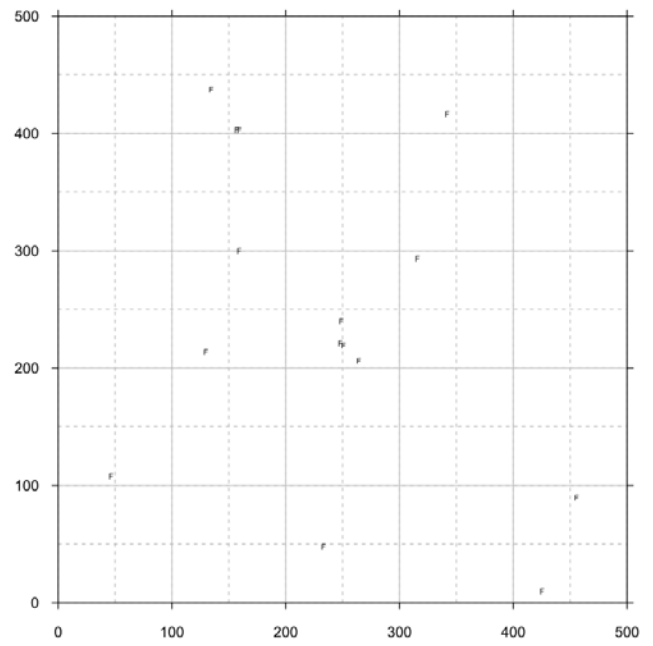
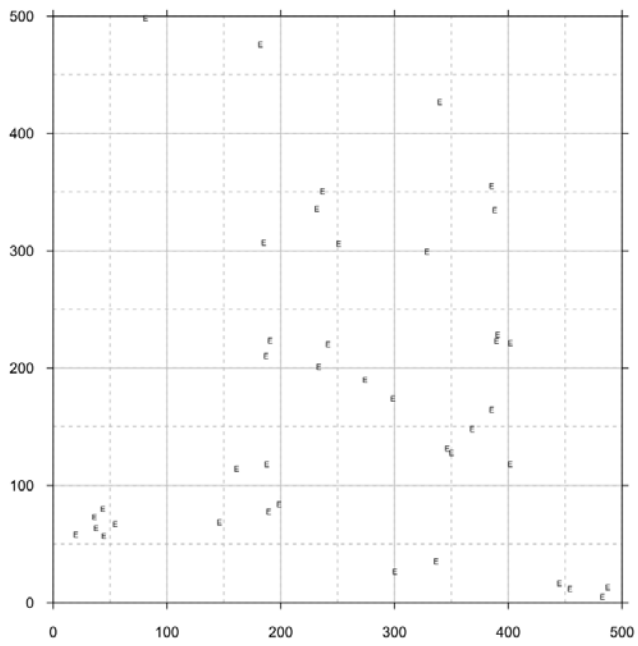


圖 2 (續)、阿信所在的這個島嶼上不同樹種的空間分布圖。這個島嶼的大小為 500 m × 500 m。

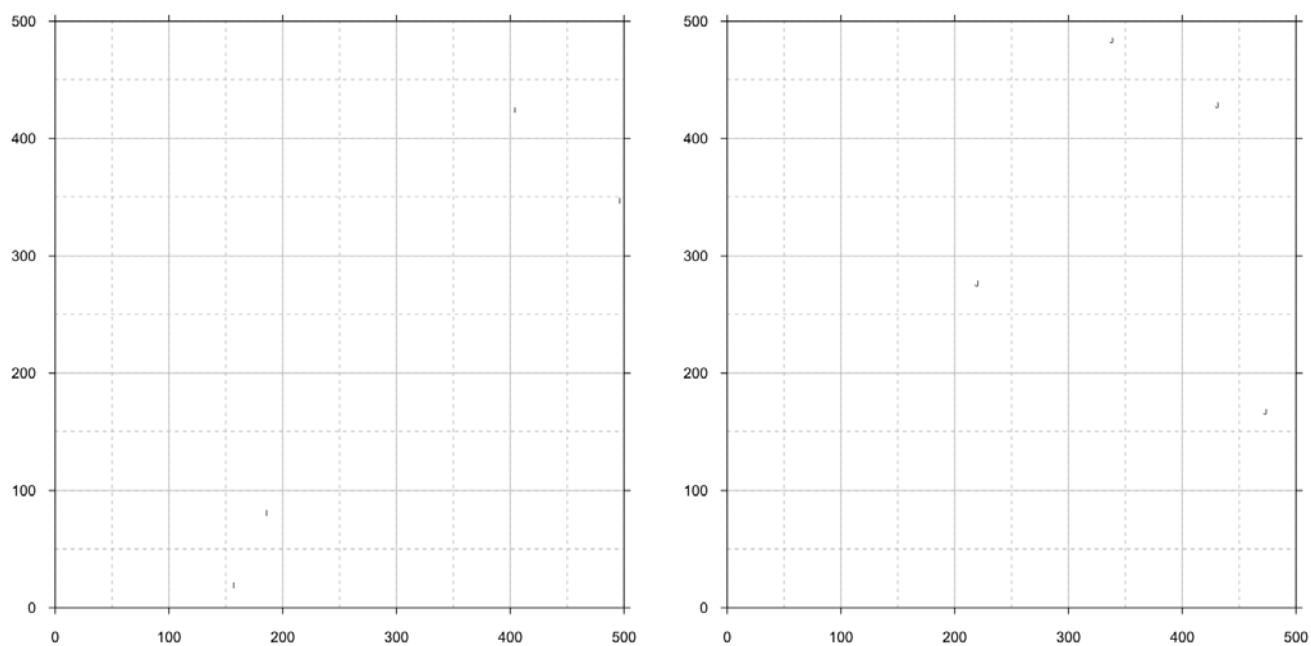


圖 2 (續)、阿信所在的這個島嶼上不同樹種的空間分布圖。這個島嶼的大小為 500 m × 500 m。

1. 阿信在調查這座島上的樹木時，發現隨著他調查範圍愈來愈大，他所發現的樹木種類與調查面積似乎有種關係存在。為了瞭解取樣面積與調查到的樹木物種數的關係，請在圖 1 中以下列不同的方格大小統計方格內所包含的樹木種類，方格大小如下：

50 m × 50 m (0.25 公頃)

100 m × 100 m (1 公頃)

200 m × 200 m (4 公頃)

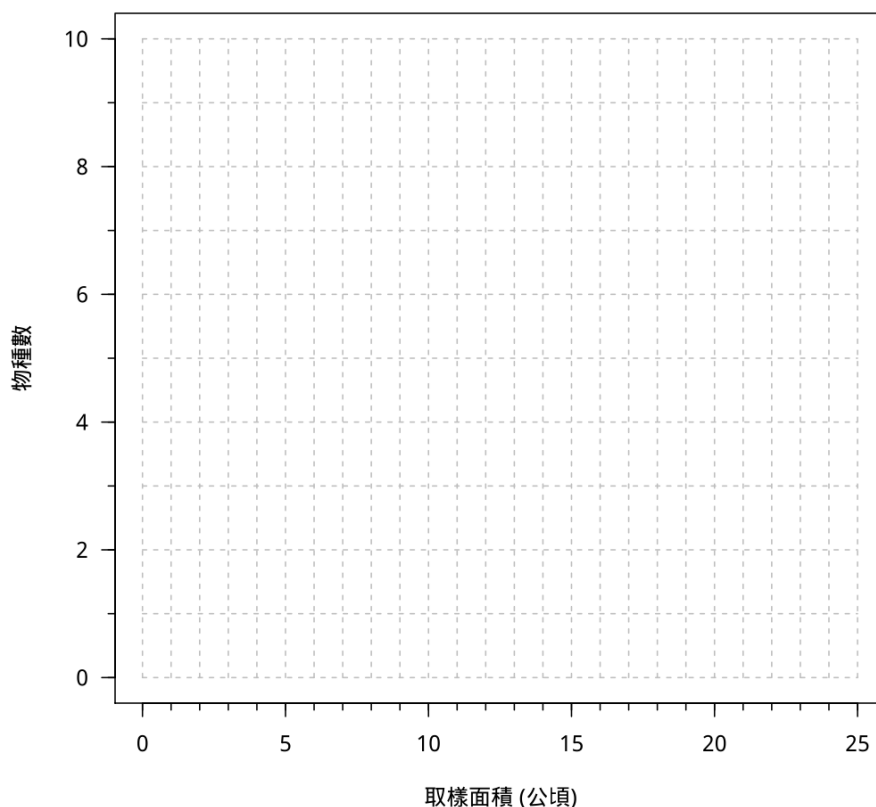
300 m × 300 m (9 公頃)

400 m × 400 m (16 公頃)

500 m × 500 m (25 公頃)

在進行取樣時，每種方格大小請在圖 1 中隨機重複取樣 10 次，同一大小的方格取樣時，不同次取樣之方格可以部份重疊 (其中 400 m × 400 m 取樣 5 次、500 m × 500 m 取樣 1 次即可)。請列出不同的方格大小，每次取樣所獲得樹木物種數，並依此資料，在下圖中繪製取樣面積 (單位為公頃) 與物種數的關係圖 (1 公頃 = 10,000 平方公尺)。(20%)

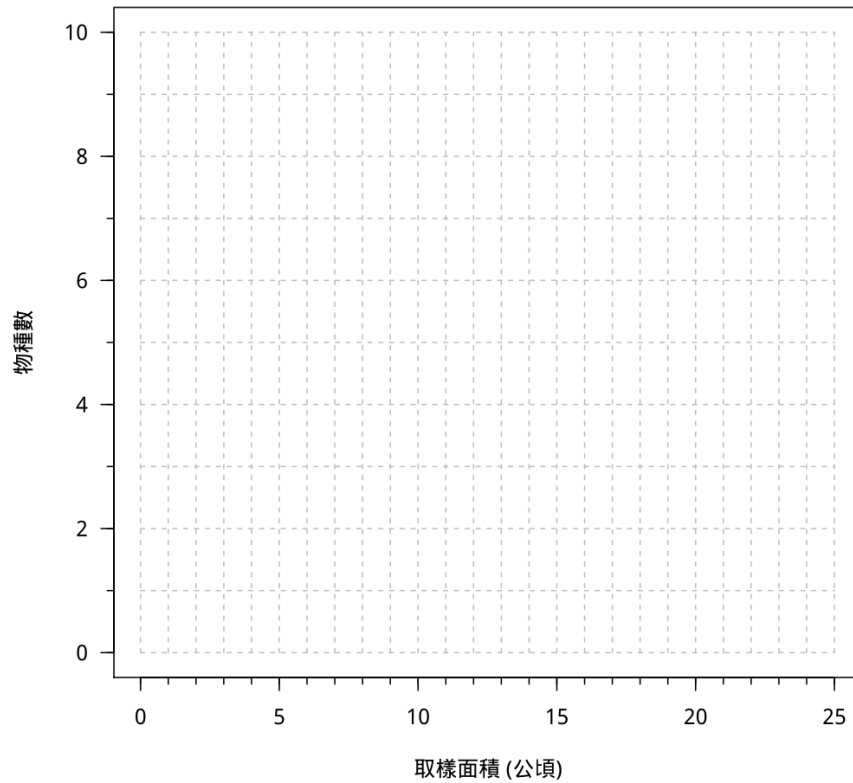
取樣面積	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均數
50 m × 50 m											
100 m × 100 m											
200 m × 200 m											
300 m × 300 m											
400 m × 400 m											
500 m × 500 m											



2. 物種數-面積關係(species area relationship)為近代保育生物學家用來估算物種滅絕速率十分常見的方法，倘若現在阿信所在的島嶼火山爆發，有 12 公頃的土地被岩漿覆蓋，根據第一題所繪製的物種數-取樣面積關係，請問可能會有多少種植物因此從該島嶼消失？請簡單說明你的計算過程。(5%)
3. 在了解了取樣面積與物種數的關係後，阿信某天又一時興起，重新計算這些不同大小的方格內所出現的樹木種數，不過這次在計算每個方格內的物種數時，阿信使用了另一種方法：該方格內要包含這個島嶼上該樹種所有的個體，這個樹種才納入計算，倘若在該方格外，尚有這個樹種其它的個體存在，則該樹種就不列入計算。阿信計算部分結果請見下表，請依阿信這次新的方法，填入下列方格大小 (50 m × 50 m、100 m × 100 m、200 m × 200 m、300 m × 300 m、400 m × 400 m) 之物種數於表格中。在計算時，除了 400 m × 400 m，其餘各方格大小請重複取樣 10 次，每次取樣時，不同次取樣之方格可以部份重疊，並將 10 次取樣的結果取 平均 填入表格中 (400 m × 400 m 取樣 5 次即可)。

方格大小	取樣面積 (公頃)	物種數
50 m × 50 m	0.25	
100 m × 100 m	1.00	
200 m × 200 m	4.00	
300 m × 300 m	9.00	
400 m × 400 m	16.00	
475 m × 475 m	22.56	1.9
495 m × 495 m	24.50	4.9
499 m × 499 m	24.90	6.7
499.9 m × 499.9 m	24.99	9.8

阿信稱依此方法計算之物種數與取樣面積的關係為：特有種-面積關係 (endemics-area relationship)，請將上表的資料繪製在下圖中。(10%)



4. 在完成第 3 題的這個計算後，阿信發現如果換用這個關係來估算因為棲地破壞而消失的物種數，與使用第 1 題所計算的物種-面積關係來估算，兩者所得到的結果有很大的差異，請問為何會有這個差異呢？(7%) 那麼當我們在估算物種滅絕速率時，又應該考量到哪些其他因素的影響，才是比較理想的方式呢？請至少列出兩項不同的影響因素。(8%)