

考生編號_____ 分數_____

2020 年中華民國生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

第 3 試場 實作 A

動物學實驗

器材清單

個人材料名稱	數量	共用材料名稱	數量
微量離心管 1.5 mL	4 個	2 cm 磁攪拌子	1 個
離心管 15 mL	2 個	微量吸管 (P1000)	1 個
離心管 50 mL	4 個	吸管尖 (P1000)	1 盒
9 cm 培養皿	6 個	微量吸管 (P200)	1 個
滴管	5 個	吸管尖 (P200)	1 盒
28% (w/w) NH_3	1 mL	計時器	1 個
0.2 M Na_2HPO_4	50 mL*2 管	磁石攪拌器	一台
0.1 M $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	50 mL*2 管	計算機	1 個
溶液 A (pH=7)	50 mL*1 管	200 mL 燒杯	2 個
純水	500 mL	100 mL 量筒	2 個
斑馬魚幼魚	8 隻	手持 pH meter	一台
洗滌瓶(水)	1 個	垃圾桶(丟 tip 等)	1 個
		廢液杯	1 個
		拭鏡紙	1 個

- 請先確認斑馬魚幼魚為存活狀態（會動），競試過程中將不予以更換。
- 小心保護幼魚！幼魚的存活數量為評分依據。
- 每一隻斑馬魚僅做一次實驗，實驗完後請將實驗過的魚至於乾淨的培養皿中並加入純水。

※ 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 5 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，試題答案可寫在本卷背面但請註明並標上題號。

仔細閱讀下文後，再進行實驗操作

酸雨(acid precipitation)是大家都熟悉的空氣污染問題之一，過往以 pH 值是否小於 5.6 為界酸雨的標準 (Seinfeld, 1986)。不過，由於自然界中所產生的其他酸性物質 (例如甲酸等有機酸) 的影響，因此自 1990 年起許多國家均以 pH 值小於 5.0 作為酸雨之定義 (NAPAP, 1990)，我國目前亦以此作為判斷準則。酸雨對環境之影響非常深遠，可造成土壤、岩石中的有毒元素溶出，流入河川、湖泊，使水體酸化，嚴重時會使水中生物大量死亡，同時因土壤中的礦物質大量流失，植物會因無法獲得充足的養分及葉片的酸蝕而枯萎、死亡。酸雨也會腐蝕建築物、公共設施、古蹟和金屬物質，造成人類經濟、財物及文化遺產的損失 (修改自行政院環境保護署簡報)。

表一、臺灣各縣市雨水酸鹼值觀測平均值

縣市	觀測站	雨水酸鹼值 (pH)
台北市	台北	6.29
基隆市	彭佳嶼	5.08
嘉義市	嘉義	4.91
桃園縣	中壢	4.31
新竹縣	新竹	4.28
南投縣	日月潭	6.95
屏東縣	恆春	7.53
台東縣	成功	6.58

(行政院環境保護署酸雨監測分析資料)

水體中的 pH 值也會影響水生動物的運動功能，魚類大多具有逆游習性 (rheotaxis)，即依水流的方向及速度調整游動方向與速度來逆流前進，學者們常利用斑馬魚的逆游習性，來評估化學物質對魚類運動功能的影響 (Lin, 2019)。

依序完成下列實驗：

1. 請利用所附之磁石加熱攪拌器、9 cm 培養皿與 2 cm 磁攪拌子，設計出一個可用以測量斑馬魚運動功能的儀器，並測試溶液 A (pH 7.0) 時斑馬魚游泳能力 (n = 2) (15 分，取幼魚時請用滴管吸到培養皿中)

2. 使用 0.2 M Na_2HPO_4 與 0.1M $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ (檸檬酸)，按照以下比例分別配製於 50 mL 離心管當中，再用手持 pH meter 測定，最後將 pH 值填入下列空格中。
(3 分，四捨五入，取到小數點後一位)

0.2 Mol/L Na_2HPO_4	0.1 Mol/L 檸檬酸	pH	配製體積
20.55 %	79.45 %		50 mL
38.55 %	61.45 %		50 mL
97.25 %	2.75 %		50 mL

3. 使用 28 % (w/w) NH_3 (aq) 配製出 50 mL 的 pH 10.0 溶液，寫出計算式，**沒寫計算過程，本題不計分**，配好溶液後請舉手，請評審老師評分 (10 分)。
(NH_3 密度 = 0.91 g/cm^3 ， $K_b = 1.78 \times 10^{-5}$ ，分子量 = $17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$)

注意：本題只評分一次；未完成評分者，後續子題，不予計分

注意：完成評分後，方可進行後續操作

4. 完成溶液的配製及評分後，將斑馬魚放入你所配製的溶液中 2 分鐘，觀察 pH 4（第 2 題）、pH 7（溶液 A）及 pH 10（第 3 題）靜置 2 分鐘後，再將魚放入第 1 題所設計的裝置，測試三種酸鹼值對斑馬魚運動功能之影響，請將數據以表格呈現，並用繪圖顯示不同 pH 值狀態下運動功能的結果（每組 $n = 2$ ，15 分）
5. 試根據實驗結果，推論桃園縣中壢市的河川中魚類的運動功能會否受影響(1 分)
- _____ (A)會、抑制 (B) 會、促進 (C) 不會 (D) 無法推論
6. 試寫出兩項可增加本實驗可信度，及更能有效地推論實際狀況的建議，並說明其原因 (6 分)。

考生編號_____《考號》_____分數_____

2020 年中華民國生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

第 3 試場 實作 B

動物學實驗

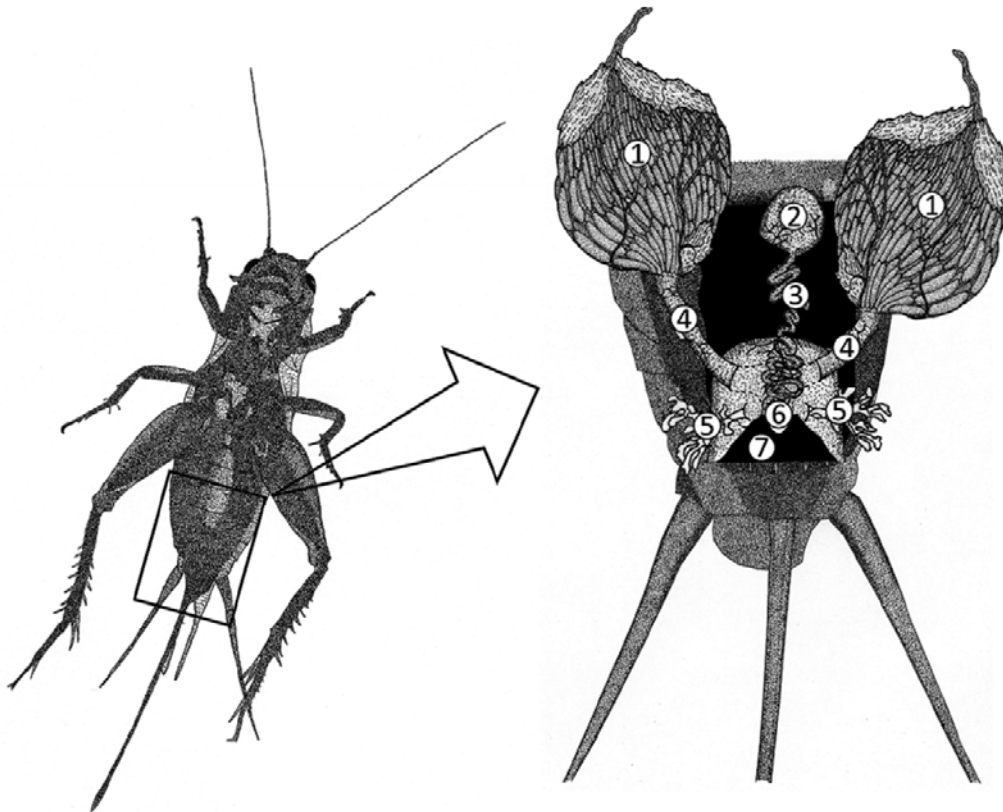
觀察與辨識蟋蟀生殖系統的發育

實驗器材：

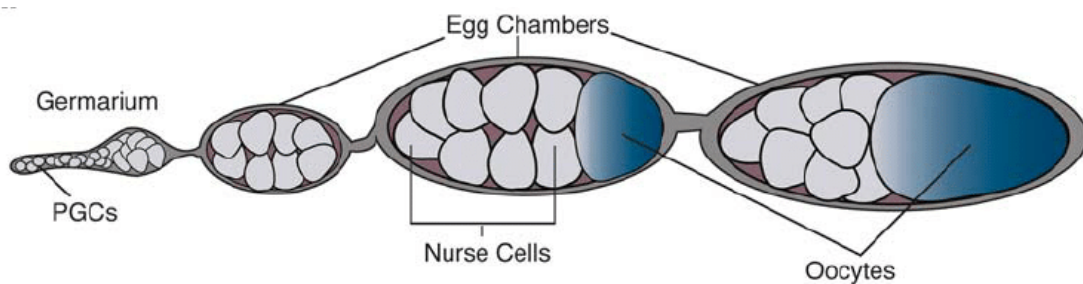
器材	數量	藥品溶液	數量
1. 解剖顯微鏡	1 台	1. 固定液 (10% formalin - 1XPBS)	1.5ml
2. 塑膠培養皿(含蓋)	1 個	2. 甲基藍	1.5ml
3. 手術剪	1 副	3. 1XPBS(於洗滌瓶中)	250ml
4. 鑷子	2 支		
5. 昆蟲針	4 根	實驗動物	
6. 滴管	1 支	1. 成熟雌蟋蟀	1 隻
7. 拭鏡紙	1 盒		
8. 紙巾	1 捲		

※ 請注意：

1. 桌上的材料、器材與蟋蟀用完或損壞後將不再補充。
2. 本試卷(含封面、試題卷)共 4 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。試題答案可寫在答案卷背面但請註明並標上題號。



圖一、雌性蟋蟀的生殖系統：(1) 卵巢；(2) 受精囊；(3) 受精管；(4) 輸卵管；(5) 副腺；(6) 生殖突；(7) 生殖腔。



圖二、一條微卵管的結構，包含卵原細胞(Germarium)、撫育細胞(Nurse cells)與卵細胞(Oocytes)。各種細胞之間可能由細長的柄(Stalk)連結。

實驗目的：取出雌蟋蟀的卵巢與輸卵管，並辨識卵巢中的微卵管與營養細胞。

操作步驟：

- (1) 將蟋蟀的腹部取下後置於培養皿中，加入適量 1XPBS 緩衝液。
- (2) 用手術剪、大頭針及鑷子清理並取出生殖系統(圖一中的(1)-(7))，**完整拿出並清理掉脂肪體與馬氏管後，舉手請老師進行第一次評分。**
- (3) 將取出來的卵巢小心剝開後放入含固定液的微量離心管(1.5ml)中，輕微搖晃後靜置 10 分鐘。
- (4) 取出卵巢，用 1XPBS 緩衝液清洗後再放入含甲基藍的微量離心管(1.5ml)中，輕微搖晃後靜置 10 分鐘。
- (5) 將甲基藍與卵巢倒於培養皿蓋中，用鑷子取出染色完的卵巢，置於培養皿中以 1XPBS 緩衝液清洗至沖洗液呈透明(卵巢會呈藍色)。
- (6) 將清洗完的卵巢置於解剖顯微鏡下觀察染色狀況(若染色狀況不好，則將卵巢再剝散些後重複步驟 4~5)。
- (7) 小心去除成熟、含有卵黃的卵，並挑選一條染色良好的微卵管(ovariole)單獨置於解剖顯微鏡(35 倍)視野下，調整好焦距後，**在本卷上畫下一條微卵管的形態，並標示卵原細胞(Germarium)、撫育細胞(Nurse cells)、卵細胞(Oocytes)以及柄(Stalk)。**畫好的舉手請老師進行第二次評分。

考號：《考號》