

2020 年第 31 屆中華民國生物奧林匹亞國手選拔營

第 3 試場 植物學實驗

第一部份：利用組織化學 GUS 染色調查不同激素對阿拉伯芥幼苗中基因的表現。材料及實驗設備：

A 實驗植物材料：		數量	
1. 阿拉伯芥幼苗 A (具有 A 基因的啟動子與 GUS 報導基因融合的轉殖幼苗； $P_{A::GUS}$) 在黑暗或白光(光強度 $80 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$) 中，分別在含有不同激素(控制組(無激素)、 $50 \mu\text{M}$ MeJA 或 $0.5 \mu\text{M}$ ACC) 的培養基中生長 6 天。		各 10 株/每人	
B 實驗器材：	數量	C 藥品溶液：	數量
1. 解剖顯微鏡	1 台	1. 固定液(置於冰上)	5ml
2. 微量吸管 P1000	1 支	2. NaPO_4 緩衝液(置於冰上)	20ml
3. 微量吸管尖	1 盒	3. GUS 染液(置於冰上)	2ml
4. 鑷子(和實驗二共用)	2 支	4. 蒸餾水	45ml
5. 1.5 ml 微量離心管	15 個	5. 50%酒精	10ml
6. 載/蓋玻片(和實驗二共用)	7 組	6. 70%酒精	15ml
7. 擦手紙及衛生紙 (和實驗二共用)	1 組	7. 95%酒精	10ml
8. 油性簽字筆	1 支	D、共用儀器	
9. 廢液杯	1 個	1.植物培養箱	1 台
10. 垃圾桶(丟 tip 等)	1 個	2.真空機	2 台
11. 計時器	1 個	3.可照相解剖顯微鏡	3 台

第二部份：幼苗的構造，以黃豆芽為例。材料及實驗設備：

1. 黃豆芽	3 株
2. 單面刀片	1 片
3. 培養皿	1 個
4. 細鑷子	2 支(和實驗一共用)
5. 載/蓋玻片	7 組(和實驗一共用)
6. 染劑(0.25% Safranin O in water)	1 小滴瓶
7. 擦手紙及衛生紙	1 組(和實驗一共用)
8. 複式顯微鏡+電子目鏡+筆電	1 組

※ 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 6 頁，於交卷時全部繳回。
3. 本試場作答時間共為 90 分鐘。
4. 請於本卷上作答，試題答案可寫至背面，但請註明並標上題號

注意：操作時間有限，請善用等待實驗作用的時間。

第一部分 利用組織化學 GUS 染色調查不同激素對阿拉伯芥幼苗中基因的表現 (50%)：

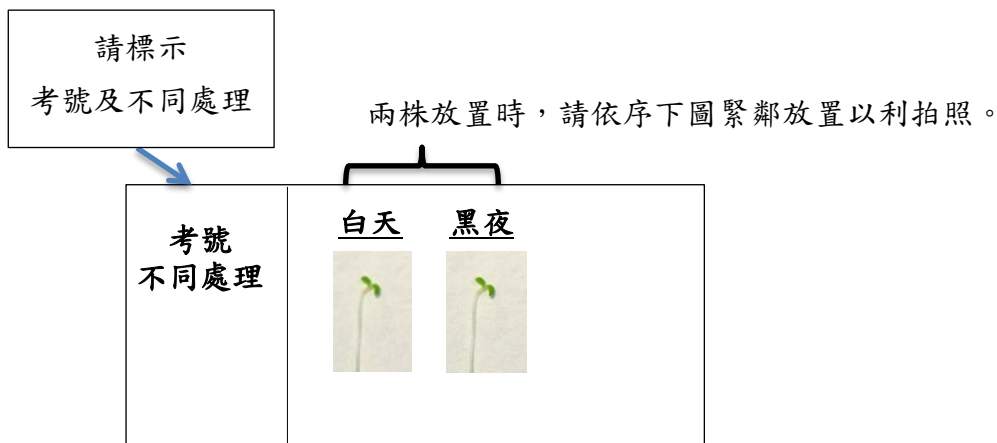
本次實作乃利用不同激素(甲基化茉莉酸 MeJA 與乙烯前驅物 ACC)處理阿拉伯芥幼苗 A，並且培養在黑暗或白光中 6 天後，藉由組織化學 GUS 染色，以瞭解這些激素對於 A 基因表現的影響。

二、實驗方法、結果與討論：

實驗方法：

A. 阿拉伯芥幼苗的組織化學 GUS 染色：

1. 將含有不同激素與相對的控制組共 6 種阿拉伯芥，各取 3 株黑暗或白光中生長幼苗，分別放入 1.5 ml 的微量離心管中，並且標示(考號-白/黑夜-激素)記錄之。
2. 加入適量預冷的 0.5 ml 固定液，待幼苗組織完全浸泡後，打開蓋子，拿到公用真空機中，然後抽氣靜置在室溫下 10 分鐘。
3. 然後用預冷的 NaPO_4 緩衝液 0.5 ml 沖洗幼苗 2 次。
4. 加入 0.3 ml 預冷的 GUS 染液，以能夠完全浸泡幼苗為原則。
5. 為利於幼苗的染色，將微量離心管打開蓋子，先放到公用真空機中抽氣 5 分鐘，蓋上蓋子拿到 37 °C 公用區植物培養箱中的震盪器輕微搖晃培養 35 分。
6. 將照白光的阿拉伯芥幼苗以蒸餾水洗去染劑，再依序分次加入 1ml 的 50%、70%、95%、95% 的酒精中浸泡沖洗，依順序各浸泡沖洗 3、3、5、5 分鐘，逐漸置換成較高濃度的酒精，以將葉片的葉綠素褪色。
7. 最終放置於含有 0.5 ml 70% 酒精的離心管中，以利保存。
8. 分別取出 1 株幼苗，製成水埋玻片(共 3 片)，在顯微鏡下檢視染色與基因表現的型式，拿到公用解剖顯微鏡照相區請助教拍照，然後回座位看玻片作答。



B. 結果與討論：

1. 根據所記錄的結果，描述阿拉伯芥幼苗 $P_A::GUS$ 在黑暗或白光中受到不同激素甲基化茉莉酸(MeJA)、或乙烯誘導後之表現，主要在幼苗的哪個/哪些位置呈現顏色？ (12 分)

I、黑暗中：

茉莉酸：_____

乙烯：_____

II、白光中：

茉莉酸：_____

乙烯：_____

2. 此 2 種不同激素在黑暗與白光中，造成 A 基因表現的位置是否有共同點？何處？ (6 分)

I、黑暗中：_____

II、白光中：_____

3. A 基因的表現是否受光的調控？解釋之。 (8 分)

4. 乙烯對於 A 基因的表現，在光中與黑暗中是否有差異？解釋之。 (8 分)

5. 試推論甲基化茉莉酸與生長素對於誘導 A 基因表現的位置是否有差異？解釋其生理意義。 (8 分)

第二部分 幼苗的構造，以黃豆芽為例 (50%)：

本實作旨在藉由徒手切片法及染色法了解幼苗的構造，特別是維管束的分布模式。

二、材料與器材 (每人)

- | | |
|----------------------------------|-------------|
| 1. 黃豆芽 | 3 株 |
| 2. 單面刀片 | 1 片 |
| 3. 培養皿 | 1 個 |
| 4. 細鑷子 | 2 支(和實驗一共用) |
| 5. 載/蓋玻片 | 7 組(和實驗一共用) |
| 6. 染劑(0.25% Safranin O in water) | 1 小滴瓶 |
| 7. 擦手紙及衛生紙 | 1 組(和實驗一共用) |
| 8. 複式顯微鏡+電子目鏡+筆電 | 1 台 |

三、操作步驟

1. 將黃豆芽的不同部位分別進行徒手切片(橫切或縱切)，將切下的切片置於裝水的培養皿中
2. 挑選較佳的切片進行染色，製成水埋玻片，在顯微鏡下觀察，並將結果以電子目鏡拍照存檔的檔名:考號-切片部位，然後請於本卷上紀錄所拍照的圖片(紀錄時請對應檔名)。

四、結果紀錄

1. 繪製黃豆芽的簡圖，繪出在全株中，根、下胚軸、子葉、幼芽等部位之維管束構造與連結模式，並在圖中標示構造名稱及其切片所對應的照片檔名。

評分方式：簡圖 10%；凡切片拍照結果清晰且與豆芽簡圖對應構造正確者，得 10 分(10*4 部位，40%)，總分 50 分。

