

2022 年第 33 屆中華民國生物奧林匹亞國手選拔營

第 4 試場

植物組實作題

注意：操作時間有限，請善用等待實驗作用的時間。

- 利用冰花植物 (Ice plant)調查其耐鹽性的反應，以及葉片相關構造的觀察。
- 本次實作將利用不同鹽濃度處理冰花植物，以瞭解這些不同鹽濃度對於冰花植物生長的影響。

一、材料及實驗設備：

A 實驗植物材料：		數量	
1. 冰花植物，生長至第 30 天時，開始分別澆灌 0、0.1 與 3% 濃度的鹽水，直至第 40 天。		1 盆/2 人	
A 實驗器材：	數量	A 實驗器材：	數量
1. 解剖顯微鏡及複式顯微鏡 (含電子目鏡+筆電)	各 1 台/人	11. 單面刀片	1/人
2. P1000 微量吸管	1 支/人	12. 載玻片/蓋玻片	9 組/人
3. 1000 μ l 吸管尖	1 盒/人	13. 研鉢、杵	2 組/人
4. 油性簽字筆	1 支/人	14. 秤量盤	2 個/人
5. 小剪刀	1 支/人	15. 比色管	2 管/人
6. 布手套	1 雙/人	16. 2 ml 微量離心管	4 管/人
7. 計時器	1 台/人	17. 玻璃試管	2 管/人
8. 簡易計算機	1 台/人	共用儀器：	
9. 鑷子(細尖頭)	1 支/人	1. 抽氣機	共用
10. 吸水紙	1 盒/人	2. 離心機	共用
11. 培養皿(上+下)	1 組/人	3. 分光光度計	共用
		4. 水浴槽 (95 $^{\circ}$ C)	共用
		5. 電子秤	共用
B 藥品溶液：	數量	B 藥品溶液：	數量
1. 20% TCA 內含 0.5% TBA (thiobarbituric acid)	10 ml	3. 液態氮	1 瓶
2. 5%(w/v)trichloroacetic acid (TCA)	4 ml	4. 蒸餾水	1 瓶

二、實驗方法、結果與討論：

實驗方法：

將白光($100 \text{ mmol/m}^2\text{s}$) 中生長的冰花植物幼苗，移入白光土壤中生長至第30天時，開始分別澆灌 0、0.1與3% 濃度的鹽水，直至第40天時作為此次實驗觀察的材料。

A. 冰花植物中 MDA(Malondialdehyde)含量的測量：MDA 含量可當作氧化逆境的指標。

1. 分別取 0%與 3%鹽水溶液處理過的 0.2 g 鮮重冰花葉樣品，倒入液態氮研磨，研磨完後加上 2 ml 5% (w/v)的 trichloroacetic acid (TCA)並成均質液。
2. 取 1 ml (上步驟)的冰花葉樣品均質液 0%、3%放入兩玻璃試管中並標好記號。
3. 取 4 ml 20%TCA 內含 0.5%TBA (thiobarbituric acid)，加入(上步驟)玻璃試管中。
4. 將 (上步驟) 玻璃試管放入 95°C 水浴中的試管架上加熱 30 分鐘，帶上布手套，到水浴槽取出靜置冷卻 2 分鐘。
5. 各取 2 ml 的混合液於微量離心管 (2 ml) 中，並標示(考號 0%和 3%)，然後離心 10 min ($12000 \times g$)。
6. 取上層液於新的微量離心管中，取約 1.5-1.7 ml 的上層液於比色管中，並到公用區利用分光光度計測定空白吸光值與樣品的 OD_{532} 與 OD_{450} 值。
請注意：取比色管時請從上方開口處拿取，底部為透光區請勿觸碰。

7. 數據黏貼區:

8. 利用下列公式計算 MDA 含量(mmol L^{-1}):

公式： $6.45 \times \text{OD}_{532} - 0.56 \times \text{OD}_{450}$.

鹽水濃度(%)	MDA含量(mmol L^{-1}):MDA
樣品一 0%	
樣品二 3%	

B.冰花植物外表型的觀察：

- 分別取培養於 0、0.1與3% 鹽濃度的冰花上之成熟葉片1片，在顯微鏡下觀察記錄葉表面的囊狀細胞形態。
 - 在葉片的上表皮各隨機取三個採樣點，並在解剖顯微鏡下，以固定放大倍率拍照記錄，然後從照片中計算囊狀細胞的數目。三重覆實驗，求平均值，填於結果與討論中。(註: 照片須存檔為 *jpg* 檔，設檔名為: 考號-鹽水濃度-第幾重複，例如: A1-0.1-1)
 - 使用任一葉片進行徒手切片，並製成水埋標本，置於複式顯微鏡下，觀察囊狀細胞是屬於葉片哪個部位，毛狀物、表皮、或葉肉？拍照存證，並說明判斷理由，填於結果與討論中。(註: 選最佳的照片一張存檔為 *jpg* 檔，設檔名為: 考號--切片，例如: A1-切片)
- 分別取培養於不同鹽濃度的冰花上之成熟葉片 1 片，切取適當大小的 2 小葉片，依葉子正面及反面，各放入載玻片，加一、二滴水後，蓋上載玻片，各放入培養皿上，葉正面放到(座位號碼-上)培養皿，葉反面放到(座位號碼-下)培養皿，然後拿到抽氣機共用區真空抽氣 5 分鐘，並且在複式顯微鏡下觀察保衛細胞構造，判斷氣孔是否有打開？答案填於結果與討論中。(註: 上、下表皮各選最佳的照片一張存檔 *jpg* 檔，設檔名為: 考號--鹽水濃度-上或下-氣孔，例如: A1-0.1-上-氣孔)

C. 結果與討論：

1-1. 記錄在 0、0.1 與 3% 濃度鹽水生長的冰花植物，何種濃度鹽水造成其葉片上的囊狀細胞分布較多？推論囊狀細胞可能的功能。

答案：冰花植物葉片上表皮的囊狀細胞數目：

0%_____；0.1%_____；3%_____ (各 3 分)

可能的功能：_____ (5 分)

1-2. 囊狀細胞是屬於葉片哪個部位，毛狀物、表皮、或葉肉？

(6 分：位置 3 分、照片 3 分)

答案：_____

2. 不同濃度鹽水生長的冰花植物，其葉片氣孔分布及開閉情形。(各 10 分：分布 3 分、開閉 3 分、上/下表皮照片各 2 分；共 30 分)

答案：0 % 鹽水：氣孔分布及開閉情形：_____ (上/下；開/閉)

0.1% 鹽水：氣孔分布及開閉情形：_____ (上/下；開/閉)

3% 鹽水：氣孔分布及開閉情形：_____ (上/下；開/閉)

3. 0 與 3% 濃度鹽水生長的冰花植物，其 MDA 含量為何？解釋鹽水濃度對於 MDA 含量的影響。(15 分)

答案：0 % 濃度鹽水生長的冰花植物 MDA 含量：_____

3% 濃度鹽水生長的冰花植物 MDA 含量：_____

鹽水濃度與 MDA 含量的關係：_____

4. 解釋鹽水濃度對於冰花植物進行光合作用時對於碳利用形式的影響。(10 分)

答案：

5. MDA 的含量多寡會影響冰花植物進行光合作用的方式嗎？解釋之。(10 分)

答案：

會：_____。 不會：_____。

原因：

6. 綜合本次的實驗，試比較 C3、C4 與 CAM 型植物進行光合作用方式的差別。請以氣孔開關時間、碳利用形式與水分利用的效率比較之 (6 分)。冰花是屬於何種碳利用型式的植物(3 分)，解釋之(6 分)。