

*Micromonas*數量在暖季時的日夜變化顏弘珉¹、蔣國平^{1,2}

1 國立臺灣海洋大學海洋環境化學與生態研究所

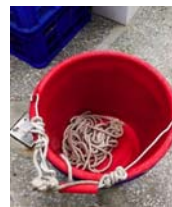
2 國立台灣海洋大學 海洋中心

前言

- 自營性的浮游生物廣布於海洋中，它和陸上的植物一樣，也具有葉綠素及其它色素，能吸收光能(太陽能)和二氧化碳進行光合作用，而自行合成有機物，作為能量的來源。浮游植物主要包括細菌和單細胞真核藻類，它們是水域生態系統中的主要生產者初級生產。近年來的文獻指出，超微真核藻類在生產力與生物量的貢獻可高於超微原核藻類 (Worden et al 2006)。
- 在超微真核藻類中，*Micromonas*是重要的組成，尤其是在沿岸生態系統。在Not et al. (2004).文章指出，它可佔超微真核藻類數量的45%。在陳亮吟同學的論文中指出，在台灣東北沿岸海域存在一個新的系群(CladeVI)。本研究利用原位雜合反應(TSA-FISH)來檢視此系群之在台灣東北沿岸海域的日夜數量變化。

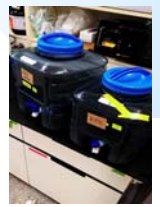
材料與方法

本研究於天氣穩定暖季時在台灣東北部沿岸海域進行採樣，7、8、9月各進行一次採樣，共三次；從早上9點開始，每3小時採樣1次，共17次；將水樣經由過濾製成樣本。



裝海水的容器

採樣用的水桶



實驗步驟

原位雜合反應(TSA-FISH)

- 180 ml 海水加入formaldehyde(最終濃度為3.7%) 固定後，過濾在0.8 μm 孔徑，直徑47 mm的polycarbonate濾膜 (Whatman) 上，之後存放在-80°C
- 取一小塊濾膜，在濾膜上加上18 μl的雜合液 (40% deionized formamide, 0.9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 0.01% SDS) 與 2μl MicroD02探針 (濃度為 50 ng μl⁻¹) 的混和液，在35°C下反應3小時。
- 以利用高鹽緩衝液 (1000 μl 1M Tris · 500 μl 0.5M EDTA · 370 μl 5M NaCl · 加水加到50ml, 50μl 10% SDS) 在37 °C下，反應10分鐘，此步驟是為了洗去多餘探針。
- 將濾膜靜置在PBS中15分鐘
- 進行螢光放大之反應。在1 ml的Amplification buffer加入10 μl稀釋的H₂O₂和4 μl Alexa488，將濾膜浸泡至此混合液中，放置於暗處30分鐘。
- 用1x PBS清洗10分鐘，重複一次
- 將濾膜切片放置在玻片上，以 DAPI進行染色，利用螢光顯微鏡計數其數量。



為濾膜切片的形狀，約成30°角，以便觀察

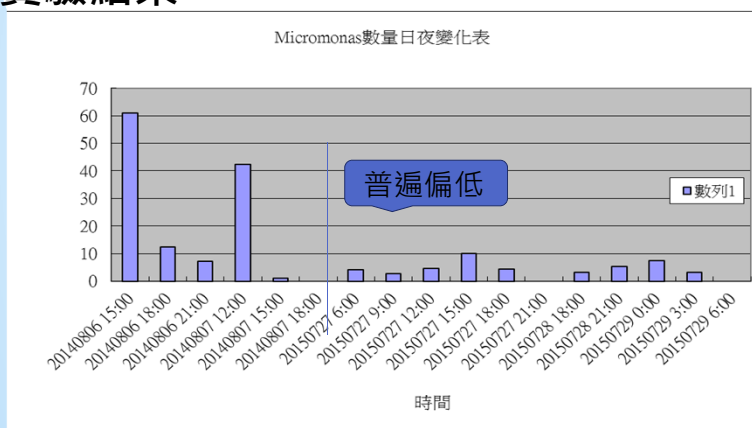


將濾膜放在載玻片上，放入管內再放進35°C烘箱反應



裡面裝者許多藥劑

實驗結果



參考文獻

- Worden, A. Z., et al. (2004). "Assessing the dynamics and ecology of marine picophytoplankton: the importance of the eukaryotic component." *Limnology and Oceanography* 49(1): 168-179.
- Not, F., et al. (2004). "A single species, *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae), dominates the eukaryotic picoplankton in the western English Channel." *Applied and Environmental Microbiology* 70(7): 4064-4072.