



2020環態所暑期研究計畫-王偉

前言

浮游植物(*phytoplankton*)為海洋生態系中重要的基礎生產者。浮游植物中可依照大小或是種類來分類。本研究中主要想要了解，東海海域中微細型真核藻類(*nanophytoplankton*)中的著鞭毛藻(*Haptophyta*)種類組成為何？

材料與方法

在2019年OR1_1232巡航在西北太平洋東海(East China Sea, ECS)的各測站所採集到的海水樣本，過濾孔徑大小為0.2- $<3\ \mu\text{m}$ 。利用DNEASY POWERWATER KIT萃取DNA。

VORTEX開最大打8min(不可超過10min)
4000xg1min (Rotor12141)

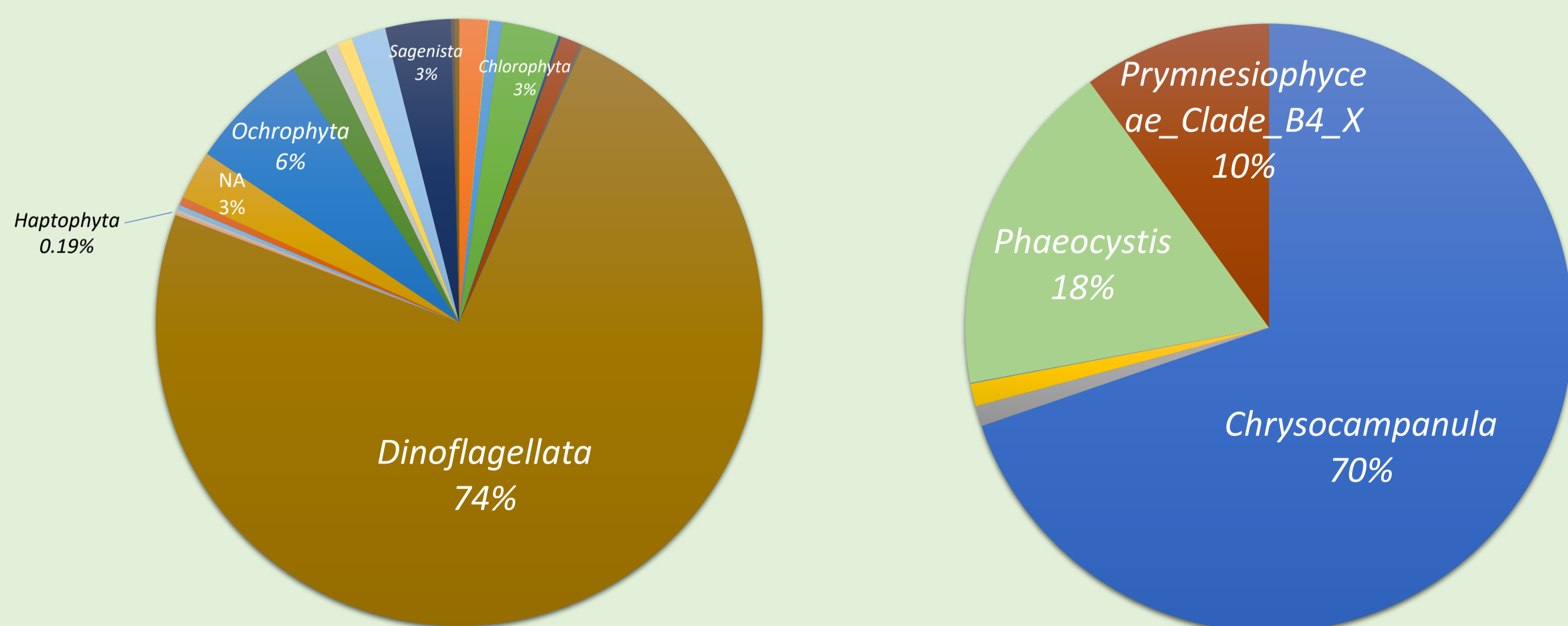
- 取上清液至collection tube，離心13000xg1min
- 取上清液至新collection tube，加入200 μl IRS，on ice (5min)，離心13000xg1min
- 取上清液至新collection tube，加入650 μl PW3，VORTEX&SPIN
- 移至MB Spin column，離心13000xg1min，清除下清液 *重複步驟至全部用完
- 加650 μl PW4至column，離心13000xg1min，移除下清液
- 加650 μl ETHANOL，離心13000xg1min，移除下清液，離心13000xg2min
- 將column移至乾淨tube，放室溫2min
- 加30 μl EB至column，放室溫2min，離心1000xg3min
- 把column丟棄，留下tube，各採1 μl 放入新的小tube
- 冷藏，之後使用Qubit Fluorometer來檢測DNA之濃度

之後經由TAREuk引子對進行聚合酶連鎖反應(PCR)放大18S rRNA V4區段。最後經由Illumina MiSeq定序。

結果與討論

在真核生物序列中最多的物種是*Dinoflagellata*佔了74%。其次是*Ochrophyta*佔6%。著鞭毛藻(*Haptophyta*)佔了0.19%。

若是再將著鞭毛藻以Genus的層級分類，*Chrysochromulina* 是主要的屬佔70%。其次是*Phaeocystis* 佔18%。

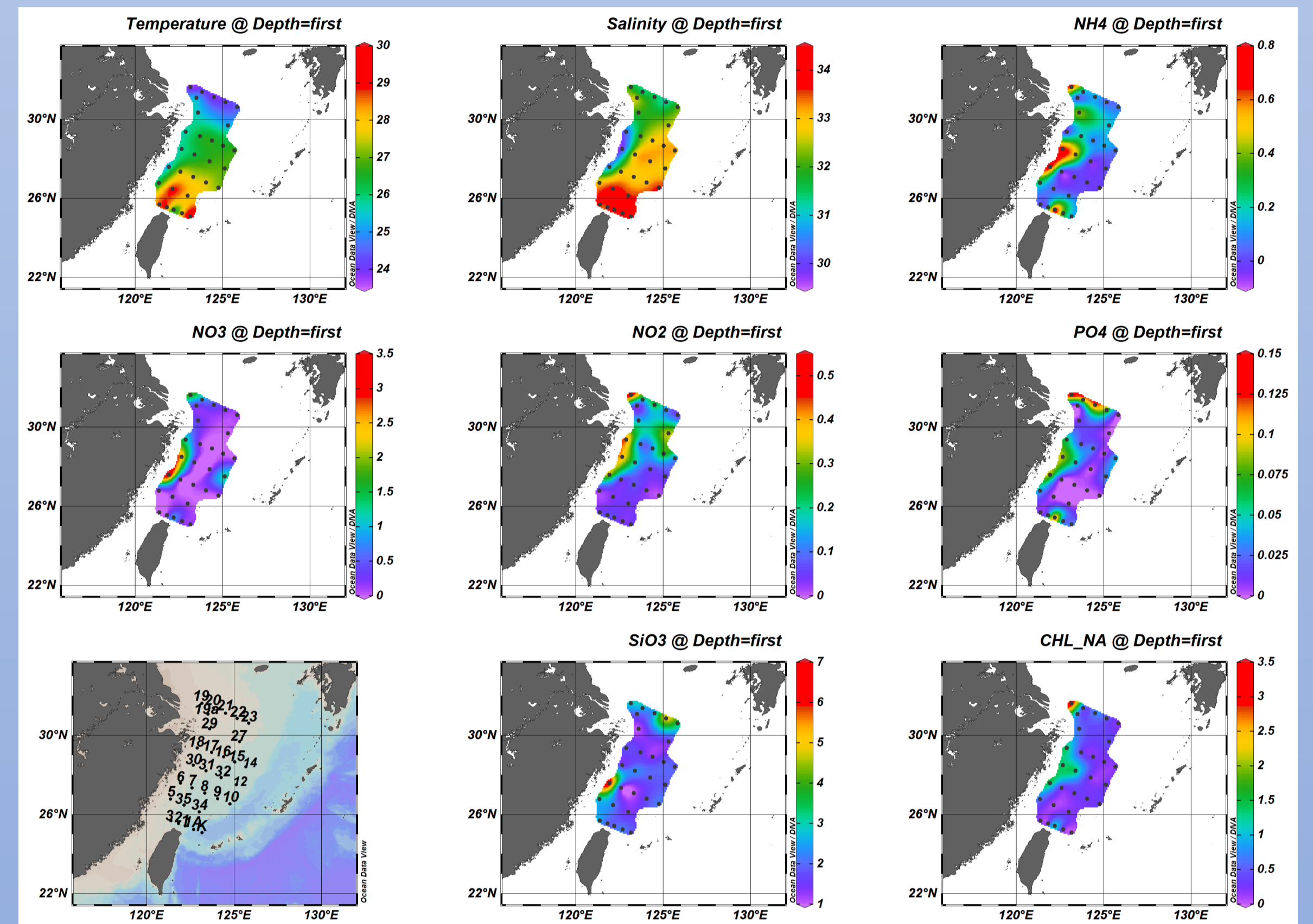


- Amoebozoa_X, Apicomplexa, Apusomonadidae, Centroheliozoa, Cercozoa, Chlorophyta, Chrysochromulina, Gephyrocapsa, Haptolina
- Choanoflagellida, Chlorophora, Cryptophyta, Dinoflagellata, Discoba, Eukaryota_XX, Haptophyta_Clade_HAP2_XXX, NA, Pavlova
- Foraminifera, Fungi, Haptophyta, Hilomonadea, Katablepharidophyta, Lobosa, Lophosiphonia, NA, Picozoa, Prymnesiophyceae_Clade_B4_X, Syracosphaerales_XX
- Miantamonadidea, Mesomycetozoa, NA, Ochrophyta, Opalozoa, Opisthokonta_X, Perkinsea, Picozoa, Pseudofungi, Radiolaria, Rhodophyta, Sagenista, Streptophyta, Stramenopiles_X, Telonemia

東海基因資料庫中各生物物種之序列比例

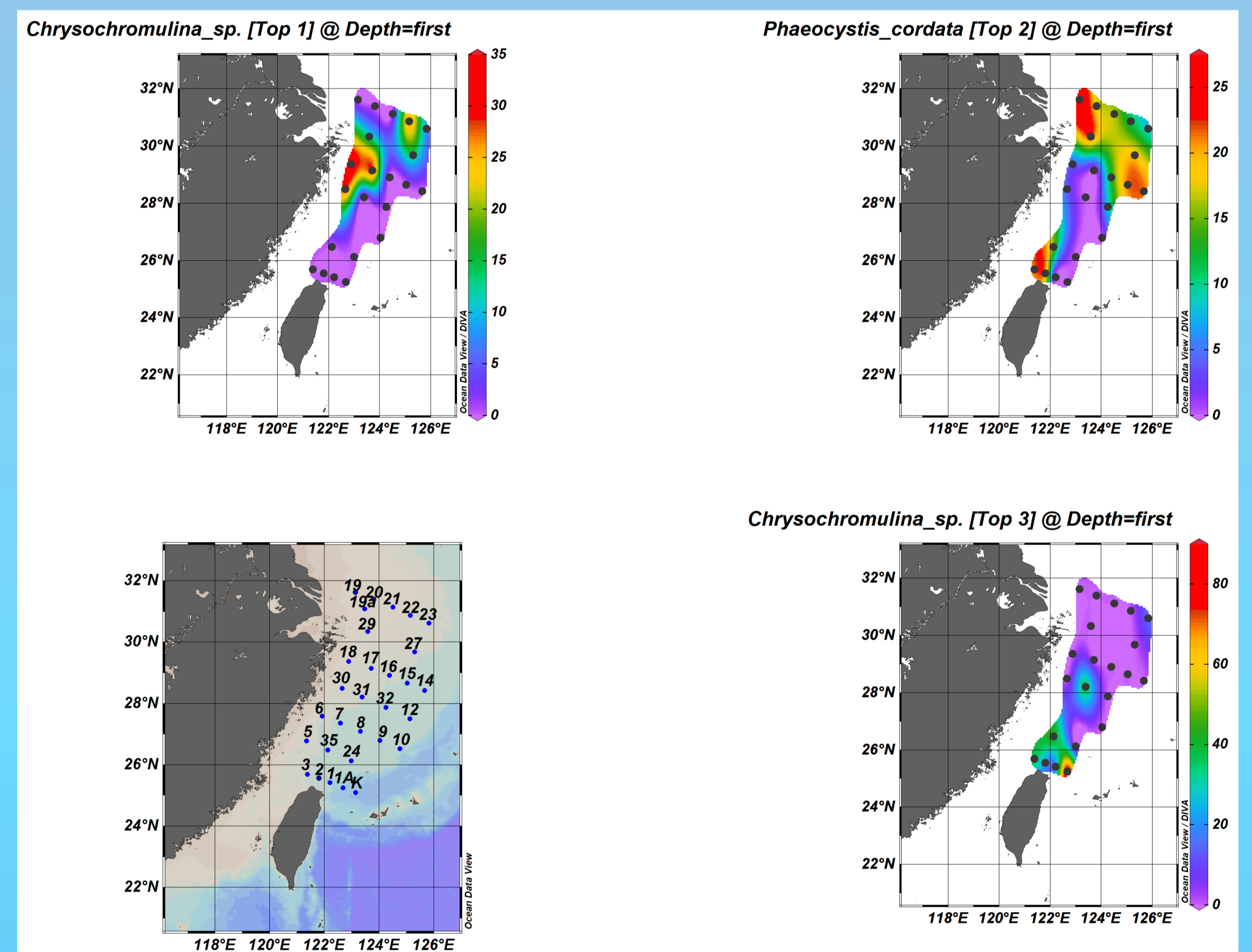
東海Haptophyta的基因資料庫中各生物物種Genus之序列比例

西北太平洋東海陸棚之採樣圖。(海研二號ORI-1232航次在2019年7月東海採樣。)



西北太平洋東海陸棚在夏季之水文環境。主要會由黑潮和長江沖淡水之兩大水團影響。而硝酸鹽、磷酸鹽、矽酸鹽等營養鹽分布都是沿岸較高。

Haptophyta 種類序列條數最多的ASV前三名 (*Chrysochromulina sp.*、*Phaeocystis cordata*、*Chrysochromulina sp.*)



我們發現Top1與Top3的名稱雖然相同，皆叫*Chrysochromulina sp.*，但兩者卻是不一樣的物種。根據圖表顯示Top1的物種分布較為接近長江出海口沿岸；而Top3則是分布在東海南部外洋海域。

暑期計畫中我學習到

- 學習如何抽取DNA實驗
- 測DNA濃度實驗
- 聚合酶連鎖反應PCR實驗
- 使用數據繪製圓餅圖
- 使用ODV繪製測站圖分析