

東海微生物食物網研究二十年來發展：由傳統走向分子生態

蔣國平

國立臺灣海洋大學 海洋環境與生態研究所

摘要

東海生態系主要基礎生產者為矽藻與聚球藻，在冷季主要基礎生產者為矽藻，在高溫之暖季聚球藻之數量可占植物性浮游生物之 60% 以上，因此在東海生態系由微小聚球藻與細菌開始之微生物食物網扮演非常重要之角色。微生物食物網之研究一開始在顯微鏡或流式細胞儀計數細菌、聚球藻、鞭毛蟲及纖毛蟲，接著用分割過濾法研究這些生物之成長與被攝食率，希望了解這些生物現存量變化之原因。研究結果顯示長江沖淡水之注入對東海微生物食物網之各種生物之現存量時空變動扮演關鍵性控制角色。2006 年以後，分子生態技術被應用在東海生態研究，利用 18S r RNA 基因資料庫、螢光原位雜和法及次世代解序技術，對於微小真核生物如綠藻等進行生物多樣性及分布研究。同時利用螢光原位雜和技術與螢光細菌餵食技術，將攝食率之測量擴展到針對著鞭毛藻的癩一藻群，有助於進行混營生物之研究，研究結果將使食物鏈中攝食者與餌料關係更為明確。

溫馨感言

劉康克老師是 KEEP 的”嚴父慈母”，記得在 1993 年一回國 KK 就邀請我進入 KEEP 計畫，當時 KK 經常邀集我們這群年輕人一起討論數據，並適時給予指導與協助。當大家對微生物食物網仍一知半解的時候，KK 就安排我回我的母校-日本東北大學，學習纖毛蟲計數技術，從此開啟東海微生物食物網研究大門。學習新的技術對科學家來說非常重要，但人都有惰性，若沒有 KK 老師不厭其煩又勸又逼的對大家，我想 KEEP 很難有今天之成就。KK 可以說是我研究路上亦師亦友的一位貴人，因此在我學生發現第一隻寡毛類纖毛蟲時，我就將其命名為 *Pelagostrobilidium liu* n. sp.，希望將此榮耀獻給我敬愛的 KK 老師。

1. 植物性浮游生物

東海生態系主要之基礎生產者為矽藻與聚球藻，micro 級的矽藻與 pico 級的聚球藻空間分布差異極大。矽藻在適合成長的高溫期，其分布基本上受營養鹽控制，所以在湧昇流或沿岸等營養鹽較高水域，可發現高現存量且組成不同的特殊矽藻群集，其它水域均為低現存量組成相同的「背景群集」(Chiang et al., 1999)。同時證實此背景群集，不會隨著季節組成產生明顯之變動(Chiang et al., 2004)。聚球藻空間分布，在非成長期的冷季基本上整個東海呈現均勻低密度狀態，沒有明顯空間分布差異，到暖季聚球藻開始成長，但沿岸水域由於濁度影響水中光度不足，所以聚球藻無法成長，所以呈現沿岸低靠外側水域高的分布型態(Chiang et al., 2002)。同時發現東海在可以在冷季 ($<20^{\circ}\text{C}$) 時，植物性浮游生物中小型聚球藻所占比率低於 20%，但暖季其所占比率超過 50%，由此可知東海生態系基礎生產者冷季以為矽藻為主；暖季為聚球藻為主。

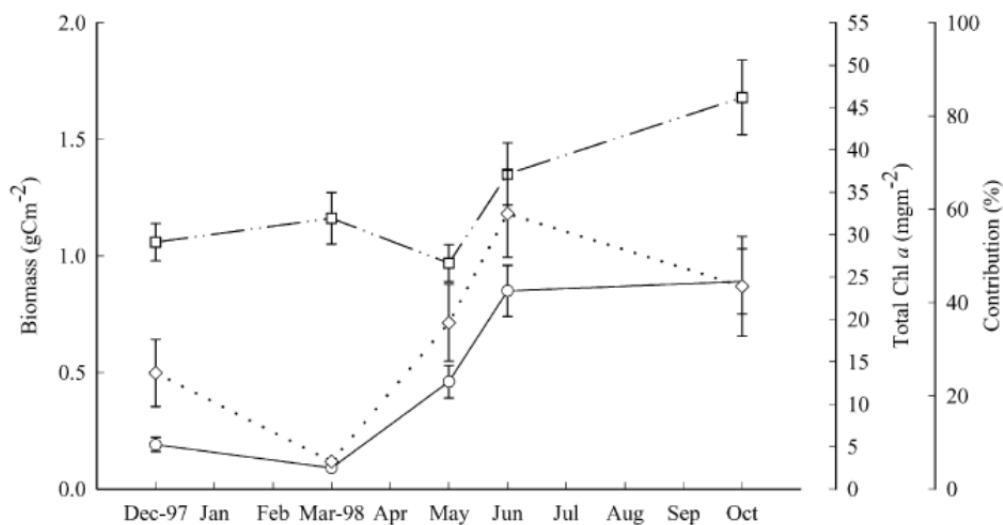


圖 1：東海陸棚海域藍綠細菌(○)和總葉綠素(□)平均積分數量與藍綠細菌占總植物性浮游生物比率(◇)之季節變動

2. 微生物食物網

A. 傳統生態研究

長江於 1994 年開始建壩，2003 年 6 月開始截流，2009 年完工運轉。例年夏季均為長江之豐水期，所以夏季有大量之淡水注入東海陸棚水域。配合 KEEP 總計劃於 1997 年開始進行東海少毛類纖毛虫時空分布之研究。研究發現東海纖毛虫的季節數量差異大約在 3-5 倍左右，夏季長江沖淡水帶入之 DOC 或 POC 或細菌使攝食細菌之微細鞭毛虫 (nanoflagellate) 與纖毛虫 (ciliate) 增加，如此造成整體纖毛虫數量增加 3-5 倍 (Chiang et al., 2003)。

鹽分 < 31 psu 之長江沖淡水域隨時間範圍大小變動，明顯影響到東海生系中微細鞭毛虫數量變動，範圍大時數量明顯較範圍小時增加。基本上鞭毛虫數量增加主要發生在長江沖淡水域內，長江沖淡水域外鞭毛虫數量並沒有有明顯差異。造成此一增加現象主要由於長江帶入之大量營養鹽，刺激 2-3 μm 小型自營性色素型鞭毛虫成長，這些小型自營性鞭毛虫之突然增加，造成淡水注入較多時期鞭毛虫群集數量有較多之情況 (Tsai et al. 2010)。

中型浮游動物在食物鏈中扮演一個將微小浮游動植物能量往上傳遞的重要角色。但很少研究針對中型浮游動物日夜攝食行為與餌料選擇性進行研究。本研究在東海進行中型浮游動物日夜攝食矽藻、纖毛虫與渦鞭鞭毛虫之攝食實驗 (Wu et al. 2010)，希望瞭解中型浮游動物攝食這些餌料日夜反應之差異及評估其對中型浮游動物攝食量之貢獻。結果顯示中型浮游動物攝食率日間攝食纖毛虫與渦鞭鞭毛虫有明顯差異，白天攝食纖毛虫與渦鞭鞭毛虫速率較攝食矽藻為快，夜晚則反之。

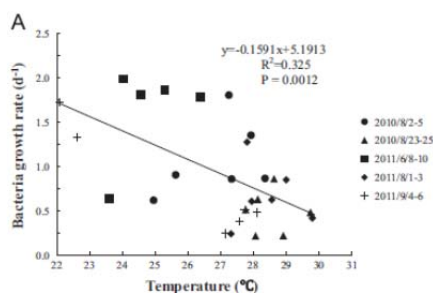


圖 2：東海南部海域細菌成長率與表層水溫關係圖

為了解東海還生物食物網中細菌、藍綠細菌及鞭毛虫數量空間之分布與造成此種分布之因素，在東海南部馬祖到湧升流域測線進行採樣，發現細菌之成長速率與水溫呈負相關 (圖 2)，由此推測細菌成長與湧升水帶入

之營養鹽有密切關係，因此此一貧營養水域

為 bottom-up control 生態體系。其次發現細菌與藍綠細菌數量每一航次均在一小範圍內變動(圖 3)，此一現象主要是因為細菌與藍綠細菌之密度會控制兩者之淨成長率(成長率與鞭毛蟲攝食率之差)，密度與淨成長率呈負相關(圖 4)，當密度低時淨成長率高細菌與藍綠細菌數量增加，當隨密度增加淨成長率減少，最後會形成負值，所以當現存量過高時，族群密度會呈負成長而降低，所以整個東海副熱帶貧營養生態系細菌與藍綠細菌之密度均維持在小範圍內變動 (Chiang et al. 2014)。

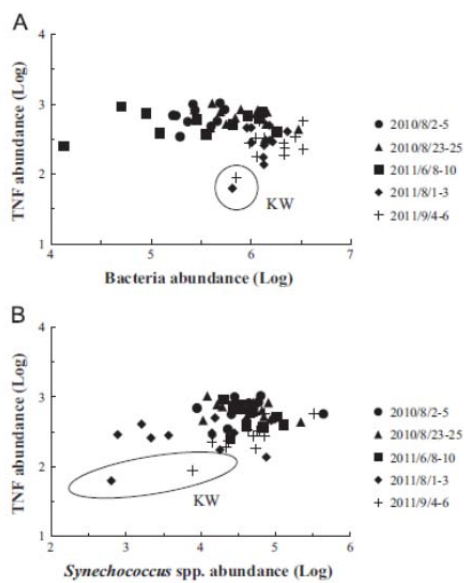


圖 3：東海南部海域表層水細菌(A)及藍綠細菌(B)數量與鞭毛蟲數量關係圖

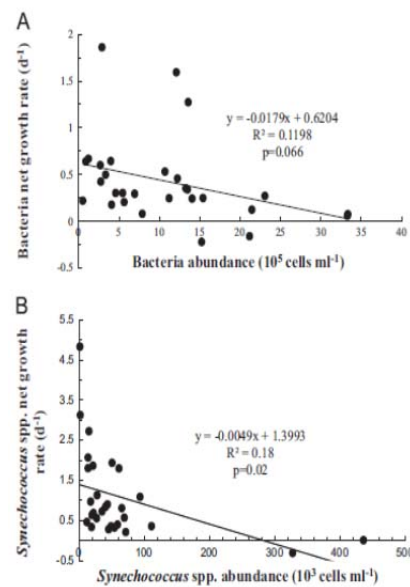


圖 4：東海南部海域表層水細菌(A)及藍綠細菌(B)數量與淨成長率關係圖

B. 分子生態研究

2009 年開始，嘗試利用分子生物技術進行進行超微(pico)及微細(nano)浮游生物之研究。其中著鞭毛藻(Haptophytes)與異鞭毛藻 (Stramenopiles)均於超微型真核生物重要組成份子。異鞭毛藻中有許多未命名或未知生物構成的分支，我們稱這些未命名生物為 Marine Stramenopiles (簡稱為 MAST)，這些未知生物依照 18S rRNA 基因可區分為 12 個分支(Clades) (MAST-1 to -12)。東海出現 MAST-1, MAST-2, MAST-3, MAST-7, MAST-8 和 MAST-11，其中 MAST-3 為主要優



圖 5: 以 ML 與 NJ 方法去估算 MAST-1A, -B, -C 之親緣關係, Bootstrapping 為 100 次, 圖中只標出顯著之結果(>70%), 其檢定數值為 ML/NJ。顏色為序列出處之緯度與深度, 而空心正方形粗體為東海域列 (897St19-43)。序列旁的紅線則是與探針不合之序

勢種。東海海域異鞭著藻 18S rRNA 基因與其他海域的序列比較得知, MAST-1 之親源關係的確受緯度影響(圖 5), 來自於相似緯度的 MAST-1, 其 18S rRNA 基因也會較相近, 因此推測溫度應該為控制親緣關係分佈之重要因子。長江口所得到的 MAST-1C 序列(897S19-43), 其親緣關係與其他缺氧海域或是沿岸海域的序列非常相近。由此推測 MAST-1C 應該又分為 2 個分支, 一分支生物分佈於大洋, 而另一分支大多分佈於沿岸沉積物或是缺氧海域。此研究說明了 MAST 的演化親緣關係與環境因子有相當大的關係 (Lin et al. 2012)。

本研究也於 2009 年海研一號春季與夏季航次, 同樣使用選擇了三個屬於不同營養鹽梯度的測站

建立了超微真核生物 18S rRNA 基因資料庫, 同時利用螢光原位雜和法針對著鞭毛藻進行分布研究, 由春季東海著鞭毛藻數量分布證實, 在長江口之黃海混和水中發現著鞭毛藻春季藻華現象, 同時藉由 18S rRNA 基因資料庫分析證實此著鞭毛藻春季藻華種類為與

Phaeocystis jahnii 與 *Phaeocystis cordata* (圖 12, Lin et al. 2014)。

此外利用螢光原位雜合法(Tyramide Signal Amplification-Fluorescence *in situ* Hybridization, TSA-FISH) 調查混營性著鞭毛蟲族群(Haptophyta)之攝食率, 證實光線之強弱不會影響到著鞭毛蟲之攝食率, 同時在貧營養鹽($\text{NO}_3 < 1 \mu\text{M}$) 著鞭毛蟲的個體攝食速率與餌料濃度呈正相關($p < 0.05$), 證實在貧營養環境混營性鞭毛蟲攝食之目的可能是為了獲取營養鹽。

參考文獻

1. Chiang, K.-P*, Y. T. Chen and G. C. Gong (1999) Spring Distribution of Diatom Assemblage in the East China Sea, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 186: 75-86
2. Chiang, K. P.*, C. Y. Lin, C. H. Lee, F. K. Shiah and J. Chang (2003) The coupling of oligotrich ciliate populations and hydrography in the East China Sea: spatial and temporal variation. *Deep-Sea Research Part II*, 50, 1279-1293.
3. Chiang, K. P.*, Y. H. Chou, J. Chang and G. C. Gong (2004) Winter distribution of diatom assemblage in the East China Sea. *J. Oceanogr.*, 60, 1053-1062
4. Chiang K-P*, A-Y Tsai, P-J Tsai, G-C Gong and B-Q Huang and S-F Tsai (2014)The influence of nanoflagellates on the spatial variety of picoplankton and the carbon flow of the microbial food web in the oligotrophic subtropical pelagic continental shelf ecosystem, *Cont. Shelf Res.*, 80: 57-66
5. Lin Y.-C., T. Campbell, C.-C Chung, G.-C. Gong, K.-P. Chiang* and A. Z. Worden* (2012) Distribution patterns and phylogeny of marine stramenopiles in the North Pacific Ocean. *Appl. Environ. Microb.* 78(9) 3387-3399
6. Lin Y-C, C-C Chung, G-C Gong and K-P Chiang* (2014)The occurrence of haptophyte bloom in the East China Sea, *Aquat. Microb. Ecol.*,72: 227-240
7. Tsai, A.-Y., G.-C. Gong., R. W. Sander, C.-J. Wang, K.-P. Chiang* (2010) The impact of the Changjiang River Plume extension on the nanoflagellate community in the East China Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 89(4), 21-30.
8. Wu, C.-J., K.-P. Chiang* , H. Liu (2010) Diel feeding pattern and prey selection of mesozooplankton on microplankton community. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 390, 134-142