

兩種海洋矽藻在低磷環境下的生長狀態及營養鹽相關的基因表現

林祐仔¹、張正^{1,2}

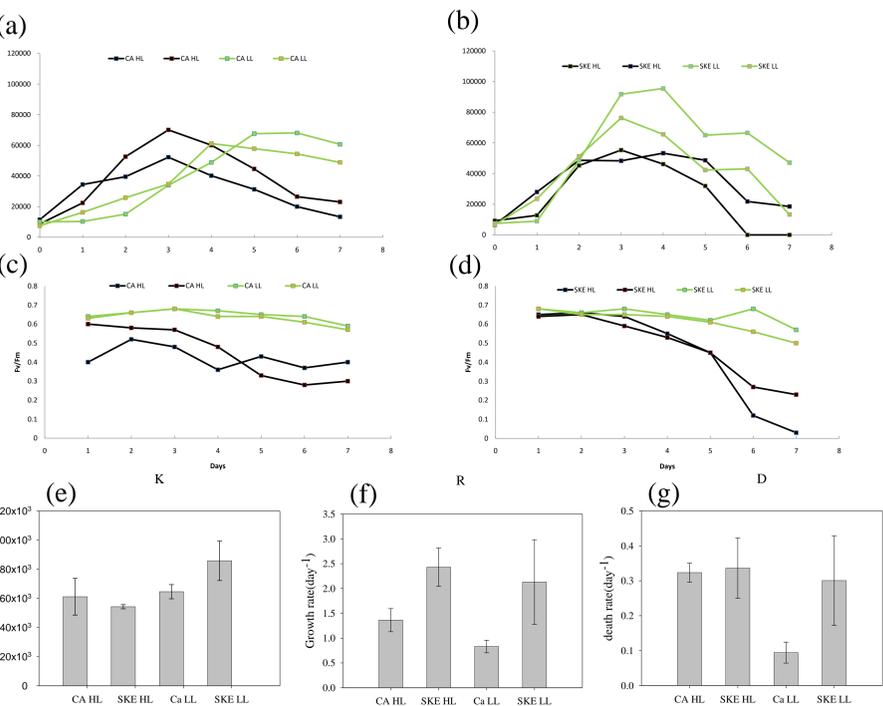
1. 國立臺灣海洋大學海洋環境與生態研究所
2. 國立臺灣海洋大學海洋生物研究所

前言

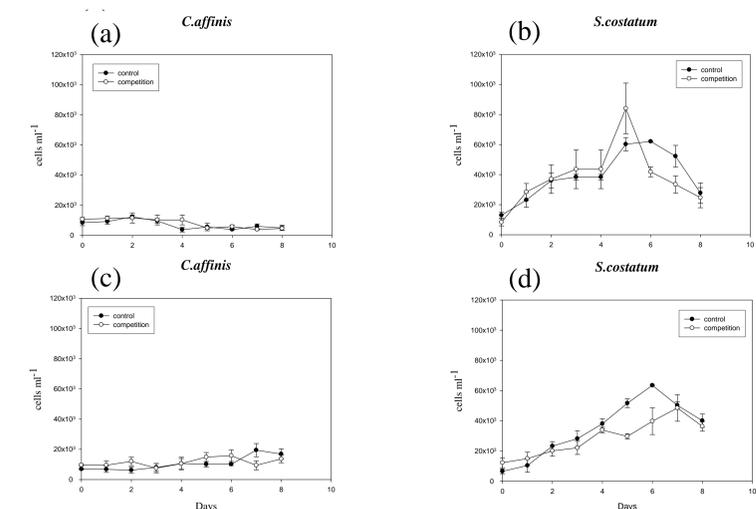
在地球上存在許多微小的浮游植物，在各種水域中，只要充足的光線和營養鹽，就能看到它們的存在。它們會行光合作用是自營性生物，這些微小的生物可以把無機碳轉換成有機碳，推動全球碳的循環。浮游植物經由光合作用得到的能量會經由食物鏈把向上層傳遞，為海洋重要的初級生產力來源，而矽藻是其中主要的分類群之一。矽藻這名詞是取自希臘語「diatomos」，意指「切成兩半」，源自於他們獨特的構造，上下各有矽殼包覆全身。*Skeletonema* 常出現於河流出口或近海沿岸，往往在夏季形成藻華，*Chaetoceros spp.* 更是海洋矽藻中種類最多的屬。*Skeletonema* 和 *Chaetoceros* 是東海常見的藻種，*Skeletonema* 在夏季東海南部沿岸馬祖海域是常見的優勢種，而在陸棚邊緣湧升流區，*Chaetoceros* 則變成主要的優勢種，可能原因是對營養鹽的需求不同和種間差異所造成，因此在低磷酸鹽下進行培養。

材料方法

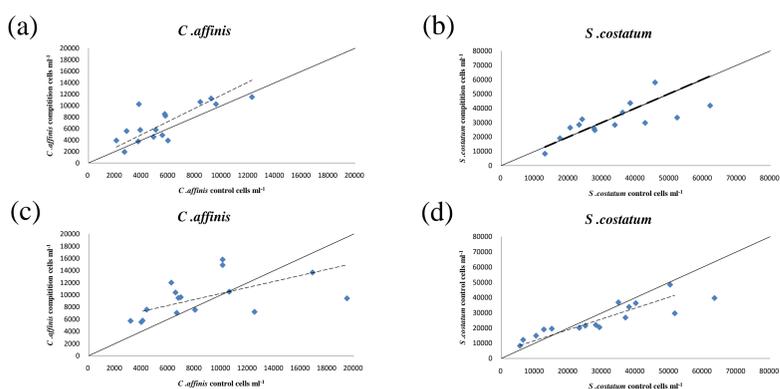
本研究以純種培養的肋紋骨藻 *Skeletonema costatum* 和窄隙角刺藻 *Chaetoceros affinis* 為對象，探討矽藻在磷缺乏時的生長情況和基因表現。為測量 *S. costatum* 和 *C. affinis* 在各種培養條件下的最大生長率，環境承載量，和死亡率，配製數種培養基進行實驗。第一種是全營養鹽的 h/20 培養基，也就是將 h/2 培養基的營養鹽濃度調成原本的十分之一，第二種是低磷培養基，將 h/20 培養基中磷濃度調低成 0.72 μM ，而其他營養鹽濃度則維持不變。培養期間光照強度也分為兩種：高光照為 110 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，低光照為 34 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，光照週期 (L:D) 設為 12:12，培養溫度為 24°C。矽藻在正式培養取樣之前，先進行兩次馴化，每次三天，馴化期間的生長條件和正式培養時相同。馴化完成之後將在指數生長期的 *S. costatum* 和 *C. affinis* 轉入 1000 ml 新鮮培養基中進行批次培養實驗，並於培養期間每天收集樣本計數細胞數、測量光合作用效率 (Fv/Fm)。從批次培養實驗結果得知兩種矽藻在高低光下種間差異不大，可是 *C. affinis* 在低光照下的死亡速率比高光照下低，所以接下來實驗都在低光照下進行。依據上面結果我們將 *S. costatum* 和 *C. affinis* 培養在 h/20 低磷低光照的環境下，進行半連續培養實驗。



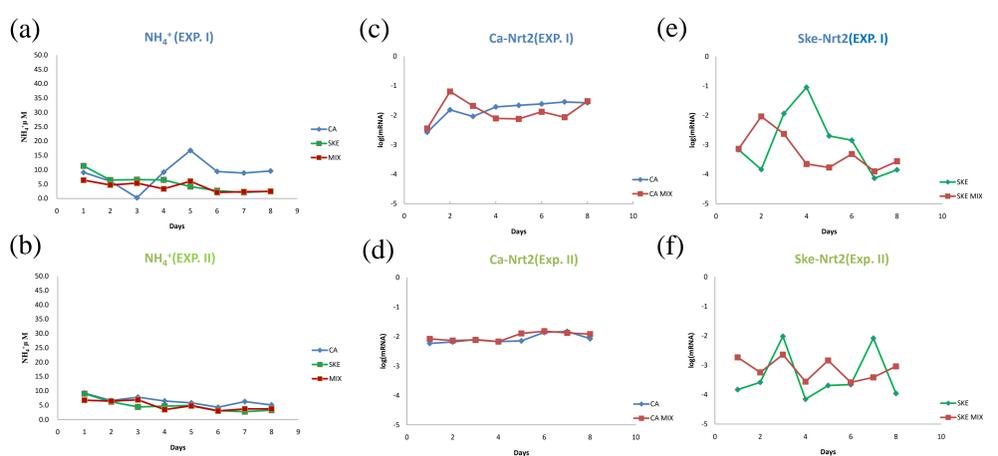
圖一、兩種海洋矽藻在 h/20 低磷批次培養期間，細胞數和各項族群生長參數。(a) *C. affinis* 細胞數隨時間的變化，(b) *S. costatum* 細胞數隨時間的變化，(c) *C. affinis* Fv/Fm 隨時間的變化，(d) *S. costatum* Fv/Fm 隨時間的變化，(e) 矽藻種間和各培養條件下的環境承載量，(f) 矽藻種間和各培養條件下的生長率，(g) 矽藻種間和各培養條件下的環境死亡率，HL: 高光照，LL: 低光照。



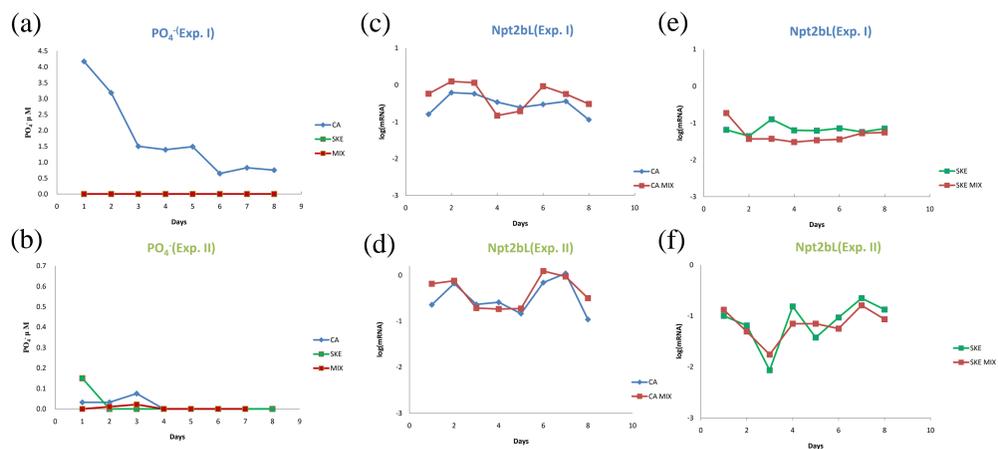
圖三、兩種海洋矽藻在 h/20 半連續低磷培養基中，單獨和混合培養的細胞數隨時間的變化圖。(a, c) *C. affinis* 單獨培養和混合培養細胞數作圖，培養實驗重複兩次，(b, d) *S. costatum* 單獨培養和混合培養細胞數作圖，error bar 為正負一的標準偏差。



圖四、兩種海洋矽藻在 h/20 半連續低磷培養基中，單獨和混合培養的相關分析作圖。(a, c) *C. affinis*，(b, d) *S. costatum*，對角線為 1:1 線，虛線為分析線。



圖五、兩種矽藻在 h/20 低磷半連續培養期間，單獨和混合培養組中的銨鹽濃度和基因表現量隨培養天數的變化，表現量之縱軸單位均為 $\log \text{mRNA} (\text{mol } Efl)^{-1}$ 。(a, b) 第一次和第二次單獨培養和混合培養組銨鹽濃度，(c, d) 為 *C. affinis* 單獨和混合培養組硝酸鹽傳輸基因表現量，(e, f) 為 *S. costatum* 單獨和混合培養組硝酸鹽傳輸基因表現量。



圖六、兩種矽藻在 h/20 低磷半連續培養期間，單獨和混合培養組中的磷酸鹽濃度和基因表現量隨培養天數的變化，表現量之縱軸單位均為 $\log \text{mRNA} (\text{mol } Efl)^{-1}$ 。(a, b) 第一次和第二次單獨培養和混合培養組磷酸鹽濃度，(c, d) 為 *C. affinis* 單獨和混合培養組磷酸鹽傳輸基因表現量，(e, f) 為 *S. costatum* 單獨和混合培養組磷酸鹽傳輸基因表現量。

結果

1. *C. affinis* 在低磷酸鹽環境下，不論光照強弱下，環境承載量都在 6×10^4 cells mL^{-1} 左右，可是在高光照環境下 *C. affinis* 死亡速率較大，而且在指數期過後直接就進入死亡期，沒有進入平穩期。而 *S. costatum* 在低磷酸鹽環境下，Fv/Fm 都明顯隨培養天數下降，從結果中可以得知兩種矽藻皆在低光照環境下有比較好的生長活性。
2. 從實驗結果與前人研究相比，在 *Nrt2* 基因的表現上，兩種矽藻在低磷酸鹽環境下的 mRNA 表現量都不高，此結果和培養基中銨鹽有殘餘的現象相符，而 *Npt2bL* mRNA 表現量就明顯偏高，從營養鹽資料中也看出來磷酸鹽是沒有殘餘的。
3. 從細胞數和基因表現上面來看，單獨培養與混合培養之間並無明顯差異，判斷兩種矽藻在低磷環境下並未產生種間競爭的現象，矽藻的基因表現也沒有受到另一種共存的影響。