

# 海洋中心電子報

## 專題報導

### 高通量核酸定序技術： 解析長江大洪水對於東海陸棚水域微生物生態的影響



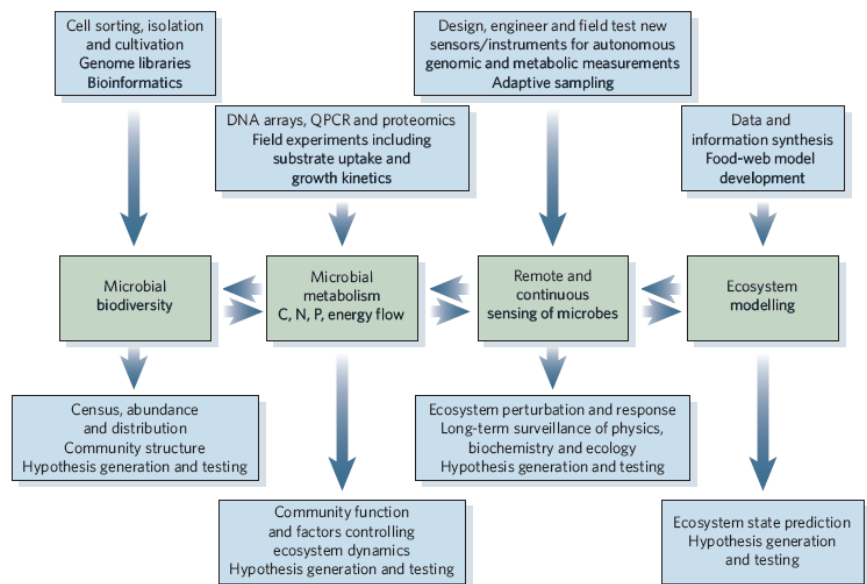
海洋環境與生態研究所  
鍾至青老師

東海長期觀測研究團隊在科技部長期的經費支持、計畫總主持人龔國慶特聘教授的領導，還有頂尖中心經費以及精密儀器（流式細胞儀、Roche GS FLX+ 高通量核酸定序平臺）的支持下，了解在極端氣候事件發生時，包括：颱風、沙塵暴、以及長江大洪水，對於臺灣周遭海域微生物生態的影響。在長江發生大洪水的夏天，富含藻紅素的聚球藻（phycoerythrin-rich *Synechococcus*），將不在長江出海口外大量的增生，而是呈現在整個東海陸棚數量較低但是均勻分布狀態。利用高通量核酸定序技術，以16S rRNA基因序列為微生物分類指標，發現在非洪災時期，東海表水域的超微原核游生物以富含藻紅素聚球藻，尤其是當中的clade-II亞群為優勢族群；但是

在發生洪災時期，聚球藻不再是優勢族群，取而代之的是像Actinobacteria、Flavobacteria、Proteobacteria這類的異營性細菌。由此可知，長江大量淡水夾帶豐富的陸原性營養鹽還有污染物進入東海陸棚水域實，將促使異營性細菌取代自營性超微藍綠細菌（聚球藻）發生大量增生的現象。

分子生物技術應用於海洋生地化研究始於20世紀末，其優點是可以直接呈現微生物對於各特定環境因子的反應，為直接之反應證據。此方面的相關研究，至今也只有短短不到20年的時間，但在海洋學非常受到重視，發展成為一門新的學科「分子海洋學」（molecular oceanography）。Delong 博士與Karl博士這兩位生物海洋學的大老，在2005年的一篇報告中就明確地指出，目前生物海洋學中很多議題必須仰賴分子生物相關技術才能夠解答，並提出「分子海洋學」未來的發展主軸：首先利用海洋研究船進行海上實地採樣，搭配實驗室的模式生物操作實驗，利用細胞學與分子生物學相關技術，探討各個不同海洋生態系統中，微生物的組成以及其與環境因子間的關係；

而後，將這些開發成功的技術結合海中錨錠自動化採樣分析與衛星遙測傳輸技術，未來希望達到不需出海就可以即時得知海中微生物組成與環境之間互動關係的境界；最後，這些資料將應用於預測全球環境變遷對於海洋生態系與生地化循環的影響（圖一）。經由這個發展模式，了解海洋生態系中微生物組成多樣性是發展分子海洋學的第一步。可惜的是，目前世界各國對於海洋微生物組成的相關知識仍處在起步階段，尤其在臺灣所處的西北太平洋水域，相關的資訊更是缺乏。幸運的是，在邁入後基因體時代的今天，高通量核酸定序技術與其他相關分子生物技術的發展純熟，進一步結合生物資訊學還有其他的環境科學相關技術，使得人類首度得以全貌窺探環境對於海洋微生物族群變遷之影響。

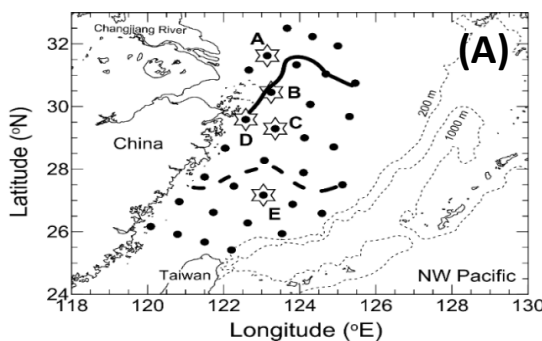


圖一、分子海洋學的研究架構。中間綠色方塊部分為此領域研究的核心研究主題；最下面的藍色方格為各核心研究主題所要探討的問題；最上面的藍色方格則是進行各核心主題研究時所必須用到的實驗方法（Delong and Karl, 2005）。

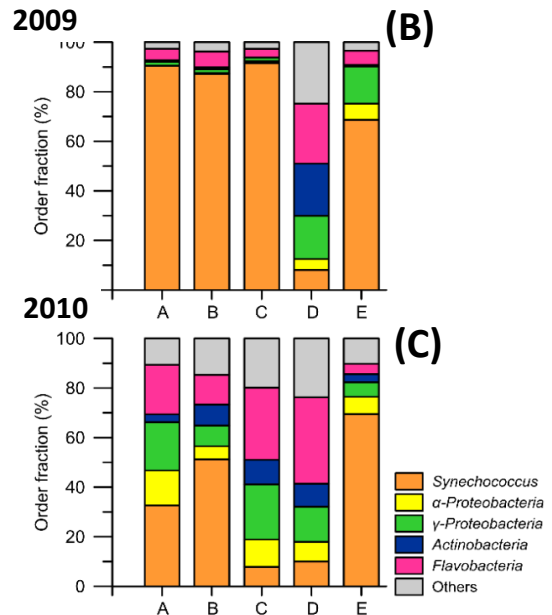
# 海洋中心電子報

CENTER OF EXCELLENCE FOR THE OCEANS

東海長期觀測研究團隊在科技部長期的經費支持、計畫總主持人龔國慶特聘教授的領導，還有頂尖中心經費以及精密儀器（流式細胞儀、Roche GS FLX+ 高通量核酸定序平臺）的支持下，在過去幾年，我們已經獲得許多相當寶貴的資訊，了解在極端氣候事件發生時，包括：颱風、沙塵暴、以及長江大洪水，對於臺灣周遭海域微生物生態的影響。以長江大洪災對於東海陸棚微生物生態組成為例，在長江沒有發生大洪水的夏天（如：2009年），長江沖淡水影響範圍只侷限在距離其出海口不遠的地方，而富含藻紅素的聚球藻（phycoerythrin-rich *Synechococcus*）在東海受長江水影響範圍的邊界通常可以觀測到大量增生的數量。但在2010年夏天，長江流域上游發生百年難得一見的大洪災，大量淡水注入東海，導致東海陸棚一半以上的水域均受到長江洪水的影響（圖二A）。這樣劇烈的水文改變，造成聚球藻不在長江出海口外大量的增生，取而代之的是，其細胞數在整個東海陸棚呈現一個數量較往年低，但是均勻分布的現象。進一步利用高通量核酸定序技術，以16S rRNA基因序列為微生物分類指標，分析非洪災與洪災期間東海陸棚表水水域超微原核浮游生物的組成，可以發現在非洪災時期，東海表水水域的超微原核浮游生物以富含藻紅素聚球藻，尤其是當中的clade-II亞群，為優勢族群；但是在發生洪災時期，聚球藻不再是優勢族群，取而代之的是像Actinobacteria、Flavobacteria、Proteobacteria這類的異營性細菌（圖二B與C）。以上結果顯示當長江大量淡水夾帶豐富的陸原性營養鹽還有汙染物進入東海陸棚水域實，將促使異營性細菌取代自營性超微藍綠細菌（聚球藻）發生大量增生的現象。預料在未來全球暖化效應影響之下，極端氣候的發生將導致洪水的發生機率將可能更加頻繁，而本研究的現場實地觀測成果將有助於了解這樣的一個效應對於海洋生態系的影響與衝擊。以上成果已經發表於2015年Microbial Ecology期刊。



圖二 (A) 長江淡水注入東海的影響範圍。實線與虛線分別表示2009年與2010年夏季沒有發生洪災以及有發生洪災時，長江淡水的影響範圍（以鹽度千分之31為界定基準）。以16S rRNA基因為分類指標，利用高通量核酸定序平臺（Roche GS FLX+）解析長江 (B) 沒有發生大洪水與 (C) 發生大洪水時，東海陸棚（測站A到E）表水微生物組成的差異（測站位至請對照panel A）(Chung et al. 2015)。



※參考資料：

Delong, E. F. and D. M. Karl. 2005. Genomic perspectives in microbial oceanography. *Nature* 437:336-342.

Chung et al. 2015. Changes in the *Synechococcus* assemblage composition at the surface of the East China Sea due to flooding of the Changjiang River. *Microbial Ecology* (DOI 10.1007/s00248-015-0608-5)

## 中心業務報告

海洋中心謹訂於2015年8月11日與8月13日於本校電算中心3樓電腦教室(一)舉辦「生物資訊教育」訓練課程，主題：CLC課程及DNAStar課程，課程相關訊息請見海洋中心網站(<http://www.ceo.ntou.edu.tw/>)。