

行政院國家科學委員會專題研究計畫期末報告

計畫名稱：四草生態保護區之海生鞭毛真菌相調查及類群間消長關係
研究 (2/2) (The flora and fluctuation of marine
Mastigomycota in protected area of Sze-Ysao (2/2))

計畫編號：NSC 90-2313-B-041-001

執行期限：90年8月1日至91年7月31日

主持人：陳淑芬

執行機關：嘉南藥理科技大學保健營養系

一、中文摘要

台南市四草濕地位於鹿耳門溪與鹽水溪口，已由農委會正式公告成立野生動物保護區，各類生態調查刻正在進行。本計畫自2000年8月至2002年7月進行四草生態保護區鞭毛真菌之定量性調查，採樣結果分離並鑑定的破囊壺菌共有3屬18種，秋、冬季的優勢種為 *T. aggregatum*、*T. aureum* 及 *T. motivum*，春季的優勢種為 *T. proliferum* 及 *S. mangrovei*，夏季則為 *T. aggregatum* 及 *U. minuta*。分析各採樣點菌種出現頻率：*T. aggregatum* 及 *T. motivum* 在1B、1C及3A屬於廣泛分佈種類，而在4A則以 *U. minuta* 為常見種類。採樣點1C在冬季的種豐富度 (S) 10為最高，不同採樣點之間的相似度百分比 (PS) 以1C與2B間84.62為最高，四季間種相似度百分比則以秋、冬季之間78.26為最高。以優勢種純培養的菌株進行溫度-鹽度組合試驗，結果不同菌株之間的最適生長鹽度則相當歧異，顯示族群內存在著不同的生態型，可以解釋鞭毛菌種類的出現隨水生環境的波動間呈現某種消長關係。

關鍵詞：海生鞭毛真菌、破囊壺菌、消長、四草生態保護區

Abstract

This project is proposed to investigate the marine zoospore fungi in protected area of Sze-Tsao from Aug., 2000 to July, 2002. The samples of water and sediment will be collected from sampling sites periodically. The quantitative methods of baiting and streaking will be used for isolation. Identification and pure culture will be followed afterwards. The isolated cultures will be kept for the studies of life cycle and thallus morphology. These will be offered to the systematic taxonomy and physiological experiments. The isolates of this study have 3 genus 18 species of Thraustochytrids. The dominated species of autumn and winter are *T. aggregatum*、*T. aureum* and *T. morivum*. The dominated species of spring are *T. proliferum* and *S. mangrovei*. The dominated species of summer are *T. aggregatum* and *U. minuta*. Frequency analysis reveals *T. aggregatum*, *T. motivum* and *U. minuta* are ubiquitous. The highest percentage of similarity (PS) between collecting sites is 84.62 between 1C and 2B. The highest percentage of similarity between four seasons is 78.26 between autumn and winter. The physiological test reveals the population with different ecological strains.

Keywords : Marine Mastigomycota, Thraustochytrids, Chytrids, Fluctuation, Protected area, Sze-Tsao

二、計畫緣由與目的

海產真菌的研究歷史短，至今僅有 54 年左右，而且研究以歐美為主，台灣地區的研究多集中於分類與形態描述[1][13]，至於此類群真菌與生態環境關係的研究則相當少見[3]。關於分類、地理分佈、生理、生態與細微構造等研究都已急速發展出來，海洋中有一定的化學、物理及生物因子範圍，其中如：鹽度、酸鹼度、及溫度均影響真菌的棲地分佈、活動及豐富度[5][11][12]。很少種類的真菌生長需要鈉離子，然而游孢子真菌包括 *Althornia* 及 *Thraustochytrium* 二屬，極需要以大量元素狀態利用濃縮的 Na^+ [6]。部份研究指出這些潮間帶真菌與海生細菌競爭並且支配海水中的維生素 B_{12} 及 thiamine 的循環[4]；Raghukumar (1992) [8] 觀察海水中 thraustochytrids 生長，發現當有細菌存在時會利用偽足移動並吞噬細菌細胞，指出破囊壺菌在自然界中扮演奇特的分解複雜的有機物以及吞食細菌 (bacterivory) 雙重角色；除了常見的在有機物如：藻類[9]、花粉、海草的表面[10]，或侵入某些軟體動物體內寄生之外，在海生無脊椎動物的碳酸鈣外殼中也發現有岩生的 (endolithic) 破囊壺菌 [7]。

台南市四草濕地位於鹿耳門溪與鹽水溪口，是台灣地區少數得以保持原貌的濕地之一，目前已由農委會正式公告成立野生動物保護區，各類生態調查刻正在進行。台南科技工業園區從 1996 年陸續動工，和保護區之間採取以土堤與水道雙重隔離，並在水道內種植適合當地的植物；此舉是否能達到避免毗鄰地區的開發影響保護區？科工區

施工與保護區內道路的興建，對於鳥類棲地造成區隔與破壞，是否也間接影響真菌相的改變，都是值得探討的問題。本計畫於 2000 年 8 月至 2002 年 7 月進行四草生態保護區鞭毛真菌之定量性調查，預計每一季採樣二次，分別採集野生動物保護區潮溝、鹽田區、紅樹林植物區、高蹺鴉繁殖區、溼地保護區之水樣與底泥，以定量方法 (pollen-MPN method) 分離、培養，並計數菌落數，同時鑑定種類；再以 Simpson's method、Shannon's method 等方法分析種優勢度、種豐富度與歧異度指數，並比較不同樣區之間的相似度 [2]，了解壺菌與破囊壺菌的種類及分佈情形。同時對於在不同地區出現的同一種鞭毛真菌，瞭解族群內是否存在不同的生態型？並探討鞭毛真菌相是否有季節性的消長以及與生態環境間的關係？作為日後進行分子分類以及研究菌體內代謝控制機轉的基礎。

三、研究結果：

1. 以 Pollen - MPN method 進行海生鞭毛菌定量分離、培養，以鑑定、計數菌數並將菌株純培養；依據生態保護區內各種環境特色選定野生動物保護區之鹽田區 (1B)、保護區外圍潮溝(1C)、紅樹林植物區 (2B)、高蹺鴉繁殖區(3A)、溼地保護區(4A) 等五個採樣點。八次採樣結果，分離並鑑定的破囊壺菌共有 3 屬 18 種 (表 1)，秋、冬季的優勢種為 *T. aggregatum*、*T. aureum* 及 *T. motivum*，春季的優勢種為 *T. proliferum* 及 *S. mangrovei*，夏季則為 *T. aggregatum* 及 *U. minuta*；其中 *T. motivum*、*T. aggregatum* 及 *U. minuta* 在四季並且在每個採樣點都曾出現，*T. proliferum* 及 *T. roseum* 除了夏季之外另三季採樣都分離到；*Schizochytrium* 屬的各種則在秋季未被分離。分析各採樣點

菌種出現頻率(表2)(圖1): *T. aggregatum* 及 *T. motivum* 在 1B、1C 及 3A 屬於廣泛分佈種類, 而在溼地保護區(4A)則以 *U. minuta* 為常見種類。比較各採樣點之種豐富度(S): 1C 在冬季的 S=10 為最高, 3A 在春季 S=9 居次(表3); 不同採樣點之間種的相似度百分比(PS)以野生動物保護區外圍潮溝(1C)與紅樹林植物區(2B)間 PS=84.62 為最高(表4), 四季間的種相似度百分比則以秋、冬季之間 PS=78.26 為最高(表5)。

2. 生理試驗: 選擇各優勢種類出現於不同採樣點、不同季節的菌株進行溫度-鹽度組合試驗(表6), 結果各菌株最適生長溫度大多為 20°C, 最適生長鹽度則相當歧異, 顯示族群內存在著不同的生態型; 其中 *T. aggregatum* 各菌株最適生長鹽度接近其分離鹽度(圖2), *T. motivum* 與 *T. roseum* 各菌株最適生長鹽度與其分離鹽度則無相關性, 可以解釋鞭毛菌種類的出現(圖3)隨著水生環境的波動(圖4)呈現某種消長關係。

四、參考文獻

- [1] 陳淑芬, 1991。台灣產破囊壺菌(Thraustochytrids)分離、培養與知見。國科會短期科技研究報告。計畫編號 81-0115-C-003-04。
- [2] 陳雅芬, 1997。南仁山亞熱帶雨林樹皮黏菌之組成及分佈類型。國立台灣大學植物學研究所碩士論文。p.33-34。
- [3] 陳淑芬, 1999。台南沿海自然保護區水生真菌相調查。研究報告。嘉南藥理學院補助。
- [4] Adair, J. and H. S. Vishniac 1958. Marine fungus requiring vitamin B₁₂. Science 127:147-148.
- [5] Dix, N. T., and J. Webster. 1995. Fungal Ecology. Publ. Chapman and Hall, London. pp.549.
- [6] Jennings, D. H. 1993. Stress tolerance of fungi. Marcel Dekker, Inc. p.209-232.
- [7] Porter, D. and W. L. Lingle 1992. Endolithic thraustochytrid marine fungi from planted shell fragments. Mycologia 84(3):289-299.
- [8] Raghukumar, S. 1992. Bacterivory: a novel dual role for thraustochytrids in the sea. Marine Biology 113:165-169.
- [9] Raghukumar, C., S. Nagarkar and S. Raghukumar 1992. Association of thraustochytrids and fungi with living marine algae. Mycol. Res. 96(7):542-546.
- [10] Sparrow, F. W. 1960. Aquatic Phycomycetes, 2nd ed. The University of Michigan Press, Ann Arbor.
- [11] Suzuki, S. 1961. The seasonal changes of aquatic fungi in the lake bottom of Lake Nakanuma. Botan. Mag. (Tokyo) 74:30-33.
- [12] Ulken, A. 1980. On some chytrids found in estuarine habitats. Botanica Marina 23:343-352.
- [13] Volz, P. A., Y. C. Hsu and C. H. Liu. 1976. The Thraustochytriaceae and other intertidal fungi of Taiwan. Taiwania 21(1):1-5.

(表1) 四草地區各採樣點發生鞭毛真菌種類分析

	春(3・4月)	夏(6・8月)	秋(9・10月)	冬(12・1月)	種數
1B (鹽田)	T. aggregatum T. motivum T. sp S. mangrovei U. minima	T. aggregatum (2) T. motivum T. sp U. minima	T. aggregatum (2) T. motivum (2) T. roseum T. aureum U. minima U. sp1	T. aggregatum (2) T. motivum T. proliferum U. sp2	10
1C (潮溝)	T. aggregatum (2) T. motivum T. proliferum S. mangrovei U. minima	T. aggregatum T. motivum S. aggregatum T. sp U. minima	T. aggregatum (2) T. motivum T. proliferum T. visurgensis U. sp3	T. aggregatum (2) T. motivum (2) T. proliferum T. aureum T. kinnei T. roseum (2) T. sp S. mangrovei S. limacinum U. sp1	14
2B (紅樹林水道)	T. kerquelenensis T. proliferum T. motivum S. aggregatum S. mangrovei (2) U. minima	T. aggregatum T. visurgensis (2) S. mangrovei T. sp	T. aggregatum (2) U. minima (2)	T. aggregatum (2) T. motivum T. roseum T. aureum (2) T. sp	12
3A (高晚落繁殖區)	T. aggregatum T. motivum (2) T. proliferum T. globosum S. aggregatum S. mangrovei (2) T. multirudimentale T. motivum (2) T. kinnei S. mangrovei U. sp2	T. aggregatum U. minima	T. aggregatum (2) U. sp2	T. aggregatum T. motivum T. proliferum T. aureum T. globosum T. sp	10 (3)
4A (濕地保護區)	T. roseum T. rossi S. aggregatum U. minima U. sp2 T. kerquelenensis U. sp2	U. minima	T. aggregatum (2) T. motivum T. globosum U. sp2	T. motivum (2) T. roseum T. globosum U. minima	8 (1)
種數	12 (5)	7	10	12	

(表2) 四草地各採樣點及菌種出現頻率分析

Collecting sites and Species	Seasons (No. of collectings)				Frequency* in	
	春(2)	夏(2)	秋(2)	冬(2)	4 seasons	8 samples
1B (鹽田)						
T. aggregatum	+(1)	+(2)	+(1)	+(2)	100	75
T. motivum	+(1)	+(1)	+(2)	+(1)	100	63
T. proliferum	-	-	-	+(1)	25	13
T. roseum	-	-	+(1)	-	25	13
T. aureum	-	-	+(1)	-	25	13
T. sp1	+(1)	+(1)	-	-	50	25
S. mangrovei	+(1)	+(1)	+(1)	-	25	13
U. minima	+(1)	+(1)	+(1)	-	75	38
U. sp1	-	-	+(1)	-	25	13
U. sp2	-	-	+(1)	+(1)	50	25
1C (潮溝)						
T. aggregatum	+(2)	+(1)	+(2)	+(1)	100	75
T. motivum	+(1)	+(1)	+(1)	+(2)	100	63
T. proliferum	+(1)	-	+(1)	+(1)	75	38
T. roseum	-	-	+(2)	+(2)	25	25
T. aureum	-	-	+(1)	+(1)	25	13
T. visurgensis	-	-	+(1)	-	25	13
T. kinnei	-	-	+(1)	-	25	13
T. sp	-	-	-	-	25	13
T. sp1	-	+(1)	-	-	25	13
T. sp2	-	-	-	+(2)	25	25
S. aggregatum	-	+(1)	-	-	25	13
S. mangrovei	+(1)	-	-	+(1)	50	25
S. limacinum	-	-	-	+(1)	25	13
U. minima	+(1)	+(1)	-	+(1)	50	25
U. sp1	-	-	-	+(1)	25	13
2B (紅樹林水道)						
T. aggregatum	-	+(1)	+(2)	+(2)	75	63
T. motivum	+(1)	-	-	+(1)	50	25
T. proliferum	+(1)	-	-	+(1)	25	13
T. roseum	-	-	-	+(1)	25	13
T. aureum	-	-	-	+(2)	25	25
T. visurgensis	-	+(2)	-	-	25	25
T. kerquelenensis	+(1)	-	-	-	25	13
T. sp	-	+(1)	-	+(1)	25	13
T. sp2	-	-	-	+(1)	25	13
S. aggregatum	+(1)	-	-	-	25	13
S. mangrovei	+(2)	-	-	-	50	38
U. minima	+(1)	+(1)	+(2)	-	50	38
3A (高晚落繁殖區)						
T. aggregatum	+(1)	+(1)	+(2)	+(1)	100	63
T. motivum	+(2)	-	-	+(1)	50	38
T. proliferum	+(1)	-	-	+(1)	50	25
T. aureum	-	-	-	+(1)	25	13
T. globosum	+(1)	-	-	+(1)	50	25
T. sp2	-	-	-	+(1)	25	13
S. aggregatum	+(1)	-	-	+(1)	25	13
S. mangrovei	+(2)	-	-	-	25	13
U. minima	+(1)	+(1)	-	-	25	25
U. sp2	-	-	+(1)	-	25	13
4A (濕地保護區)						
T. aggregatum	-	-	+(2)	-	25	25
T. motivum	-	-	+(1)	+(2)	50	38
T. roseum	+(1)	-	-	+(1)	50	25
T. globosum	-	-	+(1)	-	50	25
T. roseum	+(1)	-	-	-	25	13
S. aggregatum	+(1)	-	-	-	25	13
U. minima	+(1)	+(2)	-	+(1)	75	50
U. sp2	+(1)	-	+(1)	-	50	25

* 100-80.1% = ubiquitous, 80-60.1% = common, 40.1-60% = often present, 20.1-40% = scarce, 0.1-20% = rare (Braun-Blanquet 1928)

(表3) 四草地區各採樣點四季的種豐富度 (S)

	春	夏	秋	冬	各點 S 值
1B	5	4	7	4	10
1C	5	5	4	10	14
2B	6	4	2	5	12
3A	6+3	2	2	6	10
4A	5	1	4	4	8
各季 S 值	12	7	10	13	共計 18 種

(表4) 四草地區各採樣點間的種相似度百分比 (PS)

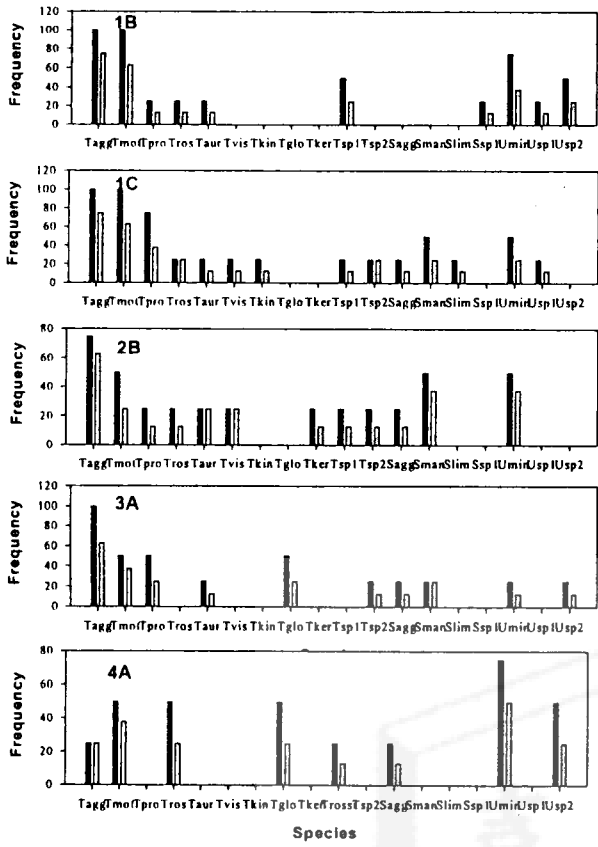
	1B	1C	2B	3A	4A
1B	—				
1C	75.00	—			
2B	81.82	84.62	—		
3A	80.00	66.67	72.73	—	
4A	66.67	47.62	50.00	66.67	—

(表5) 四草地區四季間的種相似度百分比 (PS)

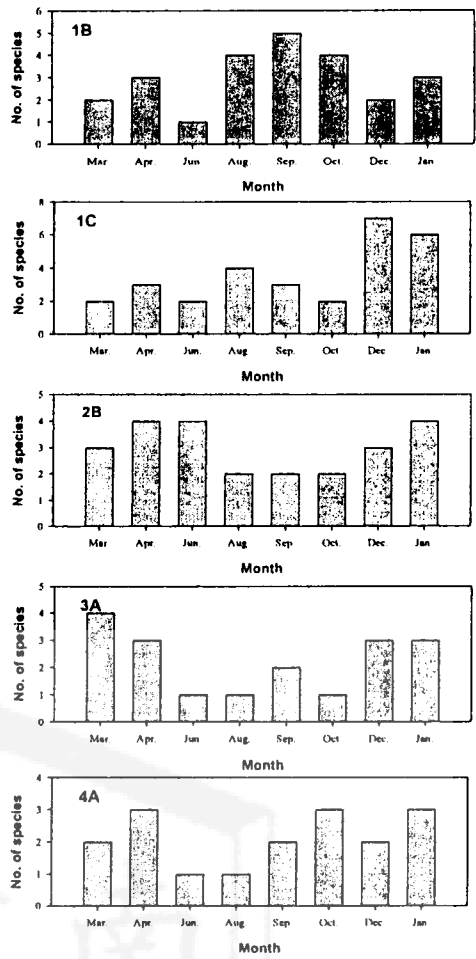
	春	夏	秋	冬
春	—			
夏	63.16	—		
秋	63.64	47.06	—	
冬	64.00	40.00	78.26	—

(表6) 四草地區四個優勢種類之各不同菌株生理試驗結果

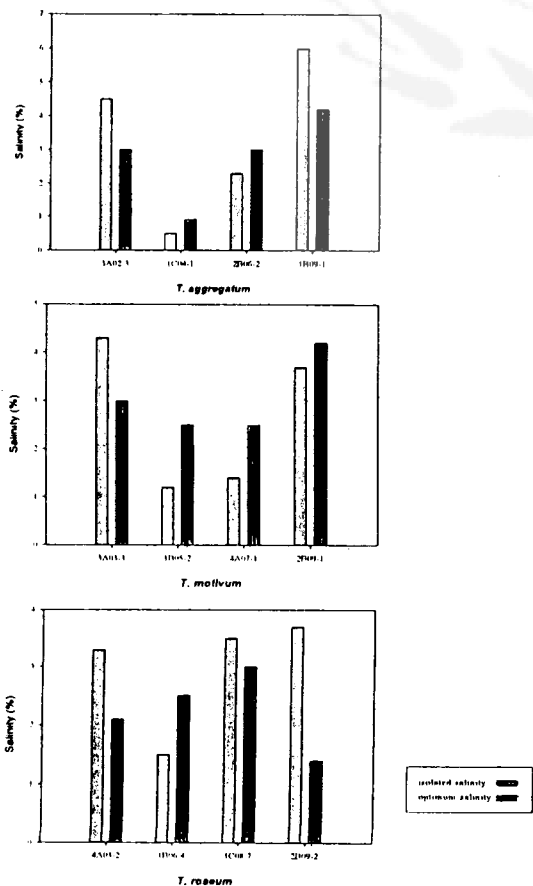
種名	菌株代號	分離鹽度	最適生長溫度	最適生長鹽度
(一) <i>T. aggregatum</i>	3A02-3	4.5%	20°C	3.0%
	1C04-1	0.5%	20°C	0.9%
	2B06-2	2.3%	20°C	3.0%
	1B09-1	6.0%	20°C	4.2%
(二) <i>T. motivum</i>	3A03-3	4.3%	25°C	3.0%
	1B05-2	1.2%	20°C	2.5%
	4A07-1	1.4%	20°C	2.5%
	2B09-1	3.7%	20°C	4.2%
(三) <i>T. roseum</i>	4A03-2	3.3%	25°C	2.1%
	1B06-4	1.5%	20°C	2.5%
	1C08-7	3.5%	20°C	3.0%
	2B09-2	3.7%	20°C	1.4%
(四) <i>T. proliferum</i>	1C07-1	2.1%	25°C	2.1%
	1B09-3	6.0%	20°C	2.5%



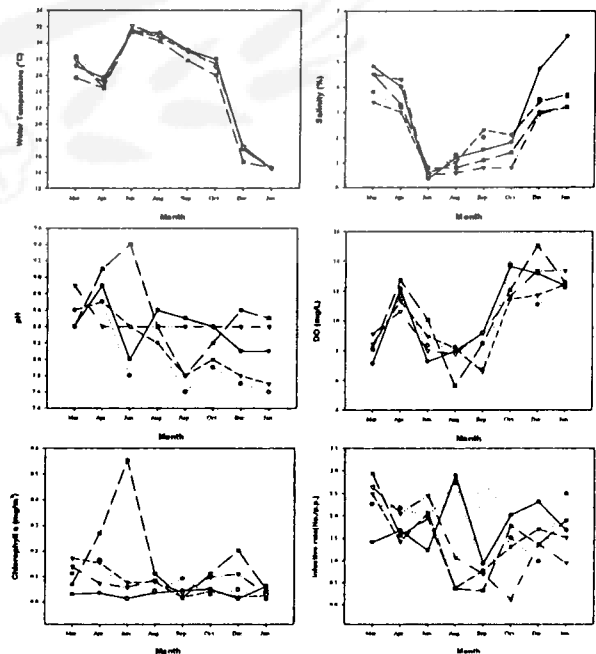
(圖 1) 四草各採樣點 (1B、1C、2B、3A、4A) 鞭毛菌種類及出現頻率分析



(圖 3) 四草地區各採樣點 (1B、1C、2B、3A、4A) 四季八次採樣分離之鞭毛菌種類數變化



(圖 2) *T. aggregatum*、*T. motillum* 與 *T. roseum* 各菌株之分離鹽度與其最適生長鹽度的相關性比較。



(圖 4) 四草各採樣點 (1B、1C、2B、3A、4A) 水質分析之每月變化圖，分析項目包括：水溫、鹽度、pH 值、溶氧 (DO)、葉綠素 a、花粉-菌絲感染率。